مروری

مسمومیت با ریسین از دیدگاه سم شناسی قانونی

دکتر کامبیز سلطانی نژاد

متخصص و دانشیار سم شناسی، مرکز تحقیقات پزشکی قانونی، سازمان پزشکی قانونی کشور، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: ریسین گلیکوپروتیینی است که از دانه‌های گیاه کرچک به دست می آید و یکی از مهلک‌ترین سموم گیاهی محسوب می‌شود. وجود انواع مسمومیت های تصادفی، جنایی و بیوتروریسم ناشی از ریسین سبب شده که این مسمومیت از دیدگاه سم شناسی قانونی دارای اهمیت بالایی باشد. هدف از این مقاله مروری بر تاریخچه، منشا، بیوشیمی، سم شناسی پایه، تظاهرات بالینی و روش‌های شناسایی ریسین در موارد بالینی و قانونی است.

نتایج: سمیت بالا، فراوانی و دسترسی آسان به گیاه، سهولت و ارزان بودن استخراج سم، غیر اختصاصی بودن تظاهرات بالینی مسمومیت و عدم وجود پادزهر اختصاصی سبب شده که از ریسین در مسمومیت های جنایی و بیوتروریسم استفاده شود. در سال‌های اخیر، کشف آزمایشگاه‌های زیرزمینی تهیه ریسین متعلق به القاعده در افغانستان و برخی از کشورها و ارسال نامه های آغشته به ریسین به دفتر رییس جمهور آمریکا خود گویای اهمیت تهدید بیوتروریستی با ریسین می‌باشد. آنالیز ریسین در انواع نمونه های زیستی و غیرزیستی جهت تایید علت مسمومیت به ویژه در موارد جنایی ضروری است. از روش های ایمنوآسی برای غربالگری و از تلفیق روشهای کروماتوگرافی و طیف سنجی جرمی برای تایید موارد مسمومیت استفاده می شود.

نتیجه‌گیری: با توجه به وجود تهدیدات دایمی و احتمال به کارگیری ریسین در حملات بیوتروریستی در کشور، لزوم آشنایی کلیه شاغلین گروه پزشکی از جمله متخصصان پزشکی قانونی و سم شناسی قانونی با مسمومیت های ناشی از ریسین و روش های تشخیص آن در موارد بالینی و قانونی ضروری می‌باشد.

واژگان کلیدی: ریسین، مسمومیت، بیوتروریسم، سم شناسی قانونی

وصول مقاله: ۱۳۹۳/۰۱/۱۷ تایید مقاله: ۱۳۹۳/۰۳/۲۴

نویسنده پاسخگو: تهران، ضلع جنوبی پارک شهر، خیابان بهشت، ستاد مرکزی سازمان پزشکی قانونی کشور، شماره تماس: ۵۵۶۱۳۷۳۱-۰۲۱

kamsoltaninejad@yahoo.com

مقدمه

ریسین (Ricin) یکی از سمی‌ترین ترکیبات شیمیایی شناخته شده در طبیعت است که از دانه های گیاه کرچک به دست می‌آید (۱). کرچک با نام علمی Ricinus communis L. گیاهی بومی آفریقا است که امروزه در بسیاری از کشورهای جهان به عنوان گیاهی با کاربردهای دارویی، زینتی و صنعتی پرورش داده می‌شود (۲، ۱). ریسین به عنوان یکی از قوی‌ترین سموم طبیعی شناخته شده در گیاهان محسوب می‌شود (۲). آشنایی انسان با اثرات سمی دانه‌های کرچک دارای سابقه‌ای طولانی بوده، از این سم طبیعی در طول تاریخ جهت شکار، خودکشی و قتل استفاده شده است (۱). در سال‌های اخیر با گسترش دانش و فن آوری، استفاده از سموم طبیعی از جمله ریسین به عنوان یک جنگ افزار بیولوژیک در جنگ های نوین مورد توجه ارتش‌های بسیاری از کشورهای جهان قرار گرفته است (۴، ۳). با توجه به سهولت دسترسی، کاشت و فراوانی گیاه به عنوان منبع این سم، سهولت استخراج ریسین از گیاه، سمیت و میزان کشندگی بالا، پایداری سم و عدم اختصاصی بودن علایم و نشانه‌های مسمومیت با آن، استفاده از ریسین در بیوتروریسم و مسمومیت های جنایی به ویژه در سال‌های اخیر روندی رو به رشد داشته است (۵، ۱). بروز انواع مسمومیت‌های حاد ناشی از ریسین در اثر مصرف تصادفی و یا عمدی دانه های کرچک، احتمال بروز مسمومیت‌های جمعی در نتیجه استفاده از ریسین به عنوان یک جنگ افزار در نبردهای نوین و یا بروز مسمومیت‌های جنایی در نتیجه کاربرد ریسین به عنوان یک عامل بیوتروریستی در ترورها و قتل های سیاسی سبب شده که این

سم از دیدگاه سم شناسی بالینی و قانونی دارای اهمیت بالایی باشد. با توجه به وجود تهدیدهای دایمی منطقه‌ای و فرامنطقه‌ای کشورمان از سوی دولت‌های استکباری، سرویس‌های اطلاعاتی آن ها و گروه‌های تروریستی نوظهور در منطقه که توانایی تولید ریسین در آزمایشگاه‌های زیرزمینی و به کارگیری از آن را در حملات بیوتروریستی دارا می‌باشند، لزوم آشنایی هر چه بیشتر کلیه پزشکان و متخصصان شاغل در مراکز درمانی کشور به ویژه مراکز درمانی مسمومین، با علایم و نشانه‌های مسمومیت با ریسین و روش‌های درمان و پیشگیری از آن ضروری به نظر می‌رسد. از طرفی آشنایی کلیه متخصصان پزشکی قانونی و سم‌شناسی در مراکز پزشکی قانونی کشور با آثار سمی این ماده در مسمومیت‌های منجر به فوت و روش‌های آزمایشگاهی تشخیص آن جهت تایید مسمومیت‌های احتمالی و اطلاع‌رسانی سریع و مناسب به مراجع قضایی، قانونی و امنیتی می‌تواند در پیشگیری و مقابله با این نوع تهدیدات بیوتروریستی در جامعه نقش غیرقابل انکاری را ایفا نماید. در این مقاله، ضمن مروری بر تاریخچه، منبع، ساختار شیمیایی، مکانیسم اثر، علایم و نشانه های بالینی مسمومیت، روش‌های درمان و پیشگیری از مسمومیت با ریسین، به روش های شناسایی و تعیین مقدار این سم در نمونه‌های زیستی و غیرزیستی و یافته های کالبدگشایی و آزمایشگاهی آن اشاره می گردد.

منبع

ریسین از دانه‌های گیاه کرچک (Castor Oil Plant) با نام علمی Ricinus communis L. از تیره فرفیون (Euphorbiaceae) به دست می‌آید (۱). با این وجود که در حال حاضر در بسیاری از مناطق آب و هوایی جهان به ویژه مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری می‌روید و دارای پراکندگی جهانی است؛ این گیاه بومی منطقه جنوب شرقی مدیترانه، شرق آفریقا و هند می باشد. (۱،۶). این گیاه در ایران با نام‌های مختلفی مانند بید انجیر و یا بزانجیر و در بسیاری از مناطق کشور از جمله شمال (گیلان و مازندران)، شرق (سیستان و بلوچستان و خراسان)، جنوب (خوزستان) و مرکز (یزد) وجود داشته و حتی پرورش داده می‌شود (۷). بسته به تیره و شرایط اقلیمی محل رویش، گیاه می‌تواند دارای خصوصیات مورفولوژیکی متفاوتی باشد و از شکل درختچه به ارتفاع ۲-۱ متر تا درخت به ارتفاع ۱۲ متر در برخی از نقاط جهان مشاهده شده است (۸). گیاه دارای برگ‌های پهن و پنجه‌ای شکل به طول ۴۵-۱۵ سانتیمتر و دارای ۱۲-۵ لوب با حاشیه‌های دندانه‌دار می‌باشد (۸). در بسیاری از گونه‌ها، برگ ها در ابتدا دارای رنگ قرمز تیره و یا برنزی بوده که با افزایش سن و بالغ شدن گیاه به رنگ سبز تیره تغییر رنگ می‌یابند. در برخی از تیره ها، برگ های گیاه از همان ابتدای رشد، سبز رنگ می‌باشند (۸). گل‌های گیاه به رنگ‌های مختلف مانند سبز، کرم، سفید، زرد و یا قرمز بسته به تیره گیاه می‌باشند (۸). میوه گیاه دارای کپسول سبز و یا قرمز- ارغوانی و پوشیده از خار می‌باشد. در درون

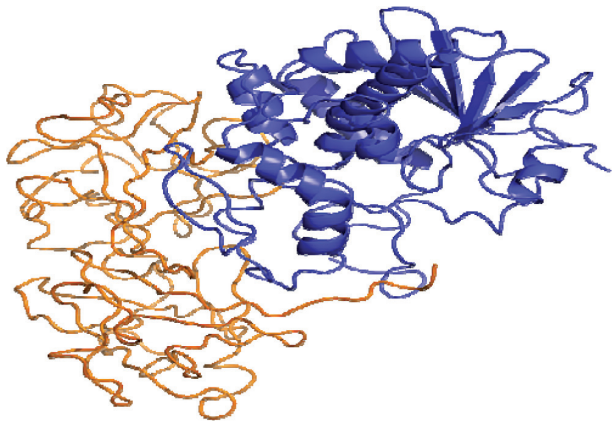
شکل ۱- گیاه کرچک برگرفته از: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:A_view_of_Castor_oil_plant_1.jpgjw,dv

میوه، دانه های گیاه به تعداد سه عدد وجود دارند (شکل ۱) (۸، ۷، ۲). دانه های کرچک بیضوی، شبیه لوبیا، با مغزی سفید رنگ و دارای پوسته‌ای ضخیم، براق، منقوط، زیبا و متشکل از رنگ‌های قهوه‌ای، سفید، خاکستری و قرمز می‌باشند (شکل ۲). زیبایی ظاهر دانه‌ها سبب شده که در برخی از کشورها مانند مکزیک و برزیل از دانه‌های این گیاه جهت ساخت دستبند و گردنبد استفاده نمایند (۲، ۱).

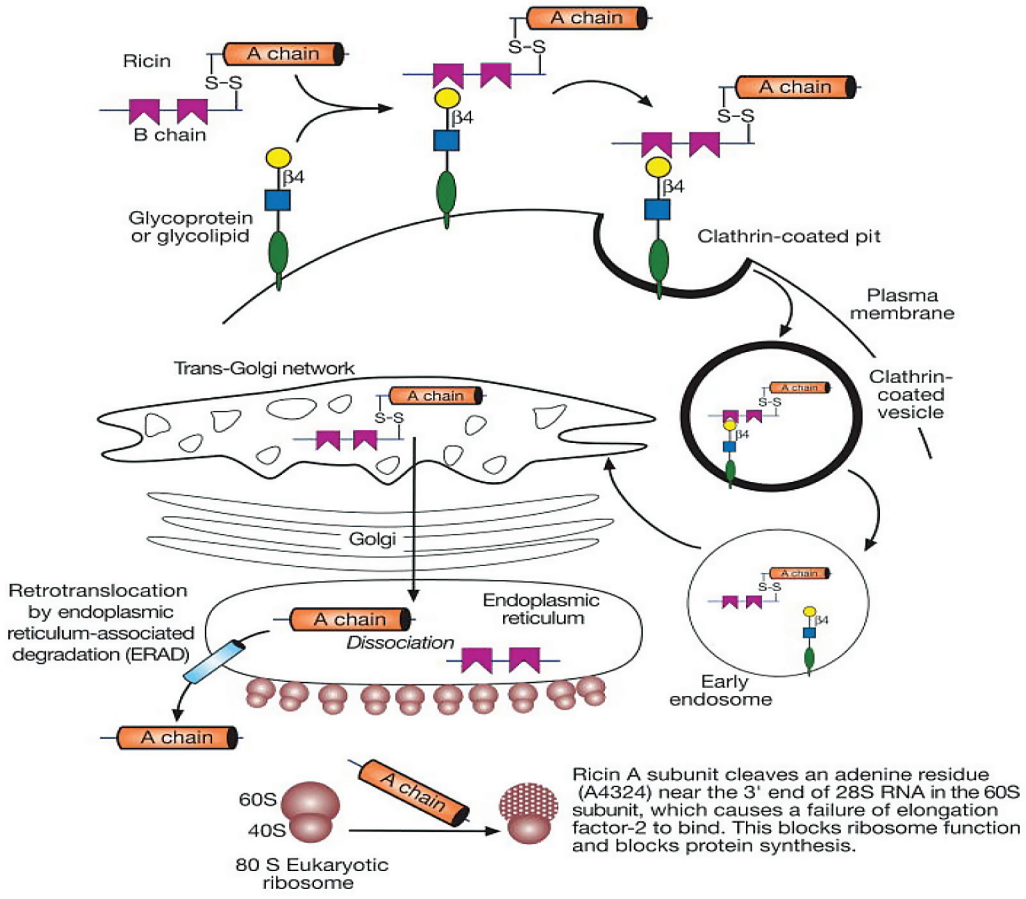
دانه‌های کرچک دارای از نظر شیمیایی حاوی ترکیبات آلی متنوعی از جمله روغن‌های گیاهی از دسته تری گلیسیریدها مانند ریسنولیین (Ricinolein) (به میزان ۶۰-۴۰٪) و توکسآلبومین گلیکو پپتیدی به نام ریسین است (۱،۶). میزان ریسین موجود در دانه‌های گیاه بسته به نوع، شرایط آب و هوایی منطقه می تواند بین ۴-۰/۱ درصد وزن هر دانه باشد (۶). یکی دیگر از ترکیبات موجود در دانه، ریسینین (Ricinine) است. ریسینین بر خلاف ریسین، یک آلکالویید پی پیریدینی با نام شیمیایی

شکل ۲- دانه های کرچک (برگرفته از مرجع شماره ۸)

3-cyano-4-methoxy-N-methyl-2-pyridone و وزن مولکولی ۱۶۴/۲ گـرم بر مول می‌باشـد (۱۰،۹،۵). در دانه کرچک، عوامل سـمی نظیر Agglutinin Ricinus commmunis – بـه اختصار RCA120- وجود دارد (۱۱)، که از نظر ساختار شیمیایی مشابه ریسین است (۱۳، ۱۲). علاوه بر این، وجود هتروژنیسـته در انواع ریسـین های بدسـت آمده از نظر میزان گلیکوزیلاسـیون منجر به بروز انواع مختلف ایزوفرم‌های ریسـین در گیاه می‌شـود (۱۴). از این رو، سـمیت گیـاه می‌تواند در اثـر وجود انـواع مختلف ایزوفرم‌های ریسـین باشـد (۱۶، ۱۵). وجود مولکول‌های پروتئین با وزن کم مانند آلبومین‌های 2S در دانه کرچک را می‌توان مسـوول بروز واکنش‌های آلرژیک در اثر تماس و یا مصرف خوراکـی دانه‌های کرچک دانسـت (۱۸، ۱۷، ۱۳). از نظر شـیمیایی، روغن کرچک طبی فاقد ریسـین، ریسـینین و سـایر ترکیبات سمی دانه کرچک بوده و حاوی ریسـینولین، انواع اسـترول‌ها، تری‌ترپن ها، ساپونین، ریبوفلاوین، اسید نیکوتینیک، اسید اولئیک، اسید لینولئیک، اسید پالمیتیک، توکوفرول و سایر مواد آلی می باشد (۷).



شـکل ۳- ساختار مولکولی ریسین. زنجیره A به رنگ آبی و زنجیره B به رنگ نارنجی نمایش داده شـده است. (برگرفته از مرجع شماره ۸)



شکل ۴- مکانیسم عمل ریسین در سلول های یوکاریوتیک. (برگرفته از:

http://medicalsquid.com/ricin-a-biological-weapon-symptoms-treatment/ricin-mechanism-of-action-rna/)

تاریخچه و کاربردهای گیاه

گیاه کرچک از دیرباز برای انسان شناخته شده است. مطالعات نشان می‌دهند که تمدن‌های مصر، چین، یونان و روم باستان با این گیاه آشنا بوده و از آن به عنوان یک گیاه دارویی و زینتی استفاده می‌نمودند (۱۹). یکی از نام‌های این گیاه در نزد رومیان باستان، "نخل مسیح" (Palm of Christ) و یا (Palma Christi) بوده است و این نام گذاری به کاربرد دارویی روغن به دست آمده از این گیاه جهت بهبود زخم‌ها و سایر کاربردهای آن در درمان بیماری‌ها اشاره می‌نماید (۱۳،۱۹). کشف دانه‌های کرچک در معابد مصر باستان که مربوط به ۴۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح می‌باشند، خود نشان‌دهنده قدمت آشنایی بشر با این گیاه می‌باشد. نام گیاه کرچک در پاپیروس ابرت (Ebert Papyrus) به عنوان یک گیاه دارویی ذکر شده و از آن در درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها استفاده شده است (۱۹، ۱). در تمدن‌های اولیه از روغن کرچک در مراسم قربانی نمودن برای خدایان استفاده شده است. در مصر باستان و اروپا، از روغن کرچک به عنوان مسهل، پماد، سوخت چراغ روغنی و داروی تقویت کننده رشد مو استفاده شده است. در هند باستان، از ۲۰۰۰ سال قبل از میلاد از روغن این گیاه به عنوان یک داروی مسهل و ملین در طب عوام و به عنوان سوخت چراغ‌های روشنایی استفاده شده است (۱۹، ۱). در طب بومی چین باستان از روغن این گیاه به عنوان دارو در درمان بیماری های داخلی استفاده شده است (۱). در ایتالیای دوران بنیتو موسولینی –دیکتاتور فاشیست ایتالیایی- از تجویز اجباری روغن کرچک به مخالفان و زندانیان سیاسی برای شکنجه و آزار استفاده شده است. خوراندن مقادیر زیاد روغن کرچک به این افراد به زور، سبب بروز دردهای شکمی و اسهال‌های شدید و دهیدراتاسیون و در برخی موارد منجر به مرگ می گردید (۱). در قرون اخیر، کاشت گیاه کرچک به عنوان یک گیاه دارویی، صنعتی، زینتی در بسیاری از کشورهای جهان رواج پیدا کرده است (۲۰، ۱۳، ۱). در ابتدای قرن بیستم، استفاده از روغن کرچک به عنوان یک داروی مسهل و ملین در پزشکی مورد تایید قرار گرفت و سپس کاربردهای صنعتی آن به عنوان یک روان کننده عالی جهت روغن کاری چرخ‌های واگن ها و ماشین آلات صنعتی مورد توجه قرار گرفت. استفاده از این روغن در هواپیماهای نظامی در جریان جنگ جهانی اول (۱۹۱۸-۱۹۱۴)، سبب تولید روزافزون این روغن جهت مصارف صنعتی شد (۱). امروزه کاشت گیاه با هدف استحصال روغن از آن برای مصارف دارویی و صنعتی گسترش زیادی پیدا نموده است. علاوه بر صنعت داروسازی، از روغن کرچک به عنوان روغن موتور در اتومبیل‌های دارای موتورهای با کارآیی بالا (نظیر خودروهای مسابقات ورزشی)، ماده افزودنی برای موتورهای دوزمانه، سوخت طبیعی و پاک خودروها (بیودیزل)، ماده اولیه برای ساخت نایلون‌ها، رزین‌ها، پلاستیک‌ها، الیاف مصنوعی، رنگ‌ها، جوهرها، جلا دهنده‌ها، مایعات هیدرولیک، صمغ‌ها، روان‌کننده‌ها، روغن‌های حشره‌کش، صابون‌ها، مواد آرایشی – بهداشتی، خوراک دام و مواد ضد قارچ استفاده می شود (۲۵-۲۰،۱۳). با توجه به کاربردهای فراوان این ماده، امروزه کاشت و تهیه دانه‌های کرچک در بیش از ۳۰ کشور جهان صورت می‌گیرد به طوری که تولید سالانه روغن کرچک بیش از ۱/۶۰۰/۰۰۰ تن می‌باشد (۲۲ ،۱۳). در این میان سه کشور هند، چین و برزیل به ترتیب بیشترین سهم را در تولید این دانه در جهان دارا می‌باشند (۲۲). قابل ذکر است که بعد از استحصال روغن از دانه‌ها و خنثی‌سازی ریسین موجود و چربی‌زدایی از آن، ماده بدست آمده تحت عنوان "Mash" و یا "Castor bean meal" جهت خوراک دام مورد استفاده قرار می‌گیرد. در ضمن از پوسته خارجی دانه به عنوان یک کود نیتروژن دار استفاده می‌شود (۲۵ ،۱). در بسیاری از کشورها، این گیاه را به عنوان گیاه زینتی در پارک‌ها، خیابانها و حیاط منازل می‌کارند (۱۳ ،۲، ۱).

ساختار شیمیایی و بیوشیمی ریسین

همان گونه که ذکر شد، ریسین یکی از مهم‌ترین عوامل سمی موجود در دانه‌های گیاه کرچک می‌باشد. این ماده در سال ۱۸۸۸ توسط Hermann Stillmark دانشجوی دانشگاه Dorpat در کشور استونی کشف شد (۱۳، ۱). وی در طی تحقیقات خود مشاهده نمود که ریسین می‌تواند سبب آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز خون و رسوب پروتیین‌های سرم گردد (۱۳، ۱). در سال ۱۹۷۲ دو دانشمند به نام‌هایOlsnes و Phil نشان دادند که ریسین موجب مهار سنتز پروتیین می‌گردد و پیشنهاد نمودند که این عمل از طریق مهار مرحله طویل شدن زنجیره تازه تولید شده پلی پپتیدی در ریبوزوم ها صورت می‌گیرد (۲۶). مطالعات بعدی نشان داد که محل اثر ریسین، زیر واحد S۶۰ ریبوزوم‌ها است (۱۳).

ریسین از لحاظ شیمیایی از دسته گلیکوپروتیین‌های هترودایمریک کروی با وزن مولکولی تقریبی ۶۶-۶۲ کیلودالتون می‌باشد. ریسین به عنوان نمونه‌ای شاخص از سموم به نام سموم AB (AB Toxins) و از خانواده پروتیین‌های غیرفعال‌کننده ریبوزوم Ribosome-inactivating Proteins(RIPs) محسوب می‌شود. RIPs شامل تعداد زیادی از سموم موجود در انواع گونه های گیاهی و باکتری شیگلا می باشند (۲۹،۲۸،۱۳،۱). این پروتیین ها دارای خاصیت N- گلیکوزیدازی بر روی RNA ریبوزومی ۲۸S در زیر واحد ۶۰S ریبوزوم‌ها می‌باشند (۳۰، ۲۸). RIPs دارای دو نوع مهم می‌باشند. نوع I این سموم به صورت آنزیم N-گلیکوزیداز مونومریک به وزن مولکولی تقریبی ۳۰ کیلودالتون بوده و در بسیاری از تیره‌های گیاهان آلی یافت می‌شود (۳۱). این پروتیین‌ها به دلیل عدم وجود زنجیره با خاصیت لکتینی توانایی ورود به سلول را ندارند و فاقد سمیت سلولی هستند (۳۲). نوع II پروتئین های غیرفعال کننده ریبوزوم ها، به صورت مولکول های هترودایمریک گلیکوزیله با خاصیت N- گلیکوزیداز می باشند و از دو زنجیره A

(دارای فعالیت آنزیمی) که با یک پیوند دی سولفیدی به زنجیره B (لکتین متصل به گالاکتوز و با خاصیت اتصال به سطح سلول و ورود به داخل سلول از طریق آندوسیتوز) می باشند (۳۲، ۳۱، ۱۳).
ریسین از دو زیر واحد گلیکوپروتئینی به نام های زنجیره A (Chain A) و زنجیره B (Chain B) که به وسیله یک پیوند دی سولفیدی به هم متصل شده‌اند، تشکیل شده است (شکل ۳) (۱۳، ۱). وزن هر یک از این زنجیره ها تقریباً با هم برابر بوده و معادل ۳۴-۳۲ کیلودالتون می باشند (۳۲). زنجیره A دارای فعالیت کاتالیتیکی (RNA N-glycosidase) بوده، زنجیره B که متصل به مولکول قند می باشد، دارای خاصیت لکتینی است (۱۳). ریسین شامل ۵۲۸ اسید آمینه است که هر یک از زنجیره های A و B به ترتیب شامل ۲۶۶ و ۲۶۲ اسید آمینه می باشند (۳۳، ۱۳، ۱). یک باند دی سولفیدی بین اسید آمینه شماره ۲۵۹ از زنجیره A و اسید آمینه شماره ۴ زنجیره B سبب اتصال این دو رشته پلی پپتیدی به هم می‌شود (۳۴، ۳۲). ۳۰٪ از پروتئین های زنجیره A به صورت مارپیچی می‌باشند (۱). جایگاه فعال ریسین در روی زنجیره A قرار دارد و با جداشدن زیر واحد B و تغییر در ساختار سه بعدی مولکول، جایگاه فعال زنجیره A نمایان می‌شود (۳۴).
در داخل دانه گیاه، ریسین به همراه لکتینی به وزن ۱۲۰ کیلودالتون به نام Ricinus communis agglutinin I (RCA) و یا RCA120 ذخیره می‌شود (۱۳، ۱). هر چند تشابه زیادی در توالی نوکلئوتیدهای در دو ژن مسوول کد نمودن ریسین با RCA120 وجود دارد، ولی مطالعات نشان می دهند این دو ماده از دو ژن مجزا کد می شوند (۱۳، ۱). بر خلاف ریسین، سمیت RCA120 کم بوده و تنها به عنوان یک عامل آگلوتینه کننده گلبول های قرمز در نظر گرفته می‌شود (۳۵).

مکانیسم اثر و توکسیکودینامیک ریسین

ریسین یک توکسآلبومین است که با مهار سنتز پروتئین در سلول های یوکاریوتیک با عث مرگ سلولی می شود (۱۳، ۲، ۱). ساختار دایمریک سم برای بروز عملکرد سمی مولکول ضروری است. ورود ریسین به داخل سلول طی چند مرحله و به شرح زیر صورت می گیرد: در ابتدا، زنجیره B مولکول ریسین به گلیکوپروتئین ها و یا گلیکولیپیدهای سطح سلولی که دارای باقیمانده گالاکتوز به صورت اتصالات متقاطع ۱و۴ می باشند، متصل می شود. در مرحله بعدی، به محض اتصال یافتن مولکول به سطح سلول، مولکول طی فرآیند آندوسیتوز (با واسطه و یا بدون واسطه کلاترین بسته به نوع سلول و میزان یونیزاسیون و قطبیت غشا)، به داخل سلول اینترنالیزه شده و وارد سیتوزل می شود. وجود زنجیره B، ورود زنجیره A به داخل سیتوزول را تسهیل می کند. توکسین وارده شده وارد آندوزوم های اولیه می شود. وزیکول های حاوی ریسین از آندوزوم های اولیه به شبکه گلژی منتقل می شوند. در مرحله بعدی، توکسین از دستگاه گلژی با یک مکانیسم ناشناخته و به صورت معکوس وارد رتیکولوم آندپلاسمیک می شود. در این مرحله و در داخل رتیکولوم آندو پلاسمیک، احیای باند دی سولفیدی بین دو زنجیره پلی پپتیدی سم، توسط آنزیم دی سولفید ایزومراز صورت می گیرد و سبب جداسازی دو زنجیره A و B از هم می شوند. زنجیره A جدا شده، از رتیکولوم آندوپلاسمیک وارد سیتوزول شده و در این حالت می تواند از طریق اتصال به زیرواحد ۶۰ S ریبوزم و تداخل در مرحله طویل سازی زنجیره پلی پپتیدی، باعث مهار سنتز پروتئین گردد. این عمل با دپورینه کردن باقیمانده آدنوزین خاص(A ۴۳۲۴) در ناحیه انتهایی ۳' زیرواحد ۲۸ S RNA ریبوزومی در زیرواحد ۶۰ S ریبوزوم موسوم به Sarcin loop، صورت می گیرد. مرحله ورود زنجیره A به سیتوزول به عنوان مرحله محدوده کننده سرعت (Rate-limiting step) در فرآیند کاهش سنتز پروتئین در نظر گرفته می شود. ریسین برای ریبوزوم های حیوانی و انسانی نسبت به ریبوزوم های گیاهی و باکتریایی فعال تر است و ریبوزوم های فاقد زیرواحد ۲۸ S و توالی نوکلئوتیدی چهارگانه GAGA هستند، از نظر ژنتیکی فاقد استعداد جهت مهار توسط سم می‌باشند (شکل ۴) (۵۰-۳۶).
ریسین با مکانیسمی که تاکنون ناشناخته مانده است می تواند سبب القای آپوپتوز در سلولها گردد (۵۱،۵۲).
ریسین می تواند سبب ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت‌های کبد و کلیه گردد. در مطالعه انجام شده بر روی موش‌های کوچک آزمایشگاهی، مشاهده گردید، که ۲۴ ساعت بعد از تجویز ریسین با دوز ۲۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ضمن بروز سمیت کبدی و کلیوی، میزان لیپید پراکسیداسیون در بافت های مذکور افزایش یافته و این پدیده با کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در بافت های کبد و کلیه همراه بوده است. در ضمن افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در پلاسما و بافت کبد و کلیه حیوانات مشاهده گردید. این یافته ها نشان دهنده دخالت استرس اکسیداتیو ناشی از تجویز ریسین در بروز اثرات سمی آن در کبد و کلیه می باشد (۵۳).

توکسیکوکینتیک

با توجه به خصوصیات ریسین از جمله اتصال بالای بافتی آن، اینترنالیزه شدن در داخل سلول، کوتاه بودن زمان شناسایی آن در نمونه های زیستی و مقادیر کم سم، سبب شده که کینتیک دقیق سم در انسان تاکنون مشخص نشود (۱۳، ۱). بر اساس یافته‌ها در مدل های تجربی و حیوانی مشخص شده است که ریسین در صورت مصرف خوراکی در طی ۲۴ ساعت از معده و روده باریک عبور می کند. مقدار عمده ریسین در عرض ۱۲ ساعت به روده بزرگ می رسد. و در طی ۲۴ ساعت، ریسین در مدفوع قابل شناسایی می گردد (۵۴). ۵۰٪ از ریسین مصرف شده از راه خوراکی جذب می شود و مقادیر بالای سم در معده و روده ها تخریب می شود. مقدار کمی از سم وارد گردش

عمومـی خون می شـود. هرچند کبد و طحال بـه عنوان اهداف اصلی سـم در بدن محسوب می شـوند، اما مقادیر قابل شناسایی ریسین در این اعضا بسـیار کم است. در کبد، سـلول‌های کوپفر و آندوتلیال های سینوزوئیدال به عنوان اهداف اصلی سم مطرح می باشند (۵۷-۵۴).
در یک مورد مسمومیت با ریسین در بیماری که با ۳۰ عدد دانه کرچک مسـموم شـده بود، حداکثر غلظت ریسین در پلاسـمای بیمار در روز اول مسمومیت ۱/۵ نانوگرم در میلی لیتر اندازه گیری شد. نیمه عمر بیولوژیک دفع ریسین، ۸ روز برآورد شد. ریسین تنها در روز سوم در ادرار بیمار با غلظت ۰/۳ نانوگرم در میلی لیتر اندازه گیری شد (۵۸).

سمیت

۱- عوامل موثر بر سمیت ریسین

سمیت ریسین بسـته به عوامل متعددی از جمله راه ورود سم به بدن (از طریق خوراکی، تزریقی، استنشـاقی و پوستی-مخاطی)، مقدار سم تجویز شده، گونه حیوان و خصوصیات فیزیولوژیک آن دارد (۱).

۱-۱- راه ورود سم به بدن

ریسین در صورت ورود از راه استنشاقی و تزریقی نسبت به راه خوراکی بسـیار سمی تر است (۱۳، ۲، ۱). دوز کشنده میانه (LD ۵۰) ریسین در موش سـوری و زمان مرگ و میر در تجویز سـم از راه استنشاقی به ترتیب ۵-۳ میکروگرم بر کیلوگرم و ۶۰ سـاعت می باشـد (۵۹). این مقادیـر برای ریسـین در تجویز خوراکی به ترتیـب ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم و ۸۵ سـاعت گزارش شـده اسـت (۵۹). در حالیکه LD ۵۰ در تجویز داخل وریدی در موشـهای سـوری و زمان مرگ به ترتیب ۵ میکروگرم بر کیلوگرم و ۹۰ سـاعت گزارش گردید (۵۹). ریسـین در مصرف خوراکی در حدود ۱۰۰۰ مرتبه دارای سـمیت کمتر نسبت به تجویز از راه تزریقی و یا استنشاقی است (۶۰، ۵۹، ۱۳، ۱). سمیت کمتر ریسـین در تجویز از راه خوراکی نسـبت به روش تزریقی و استنشاقی می تواند به علت ماهیت جذب ناچیز سـم از دستگاه گوارش و تخریب وسیع آن در روده ها باشد (۶۱). در مطالعات حیوانی، نشان داده شده که میزان جذب سم در پوست سالم ناچیز می باشد (۶۱).

۱-۲- مقدار سم تجویز شده

بلـع و جویدن ۶-۳ دانه کرچک به عنوان دوز کشـنده در انسـان بالغ برآورد می شـود. دوز کشـنده در کودکان کمتر از بالغین اسـت (۶۲، ۱۳، ۱). با این وجود در بسـیاری از مسـمومیت های اتفاقی در انسان، مرگ و میر کمی مشـاهده شـده است. این امر می تواند به عللی مانند میزان جذب کم سم از دستگاه گوارش باشد. از طرفی جهت آزادسازی ریسـین از دانه نیـاز به جویدن و ایجاد خراش در پوسـت دانه وجود دارد و در صورت بلع دانه ها و بدون جویدن ممکن اسـت بدون جذب ریسـین، دانه ها از طریق مدفوع دفع شوند. در ضمن تفاوت در میزان جویدن و تخریب پوسـته دانه ها خود می تواند به تفاوت میزان جذب ریسین منجر شود (۶۲، ۱).

۱-۳- گونه حیوانی

میزان دوز کشنده ریسین بسته به گونه حیوان می تواند متفاوت باشد. ایـن امر موجـب بروز تفـاوت در LD ۵۰ در انواع گونـه های حیوانی می شـود. به عنوان مثال در مصـرف از راه خوراکی، مرغ مقاوم ترین گونه حیوانی در برابر ریسـین اسـت و LD ۵۰ سـم در مرغ برابر ۱۴ گـرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن گزارش شـده اسـت. در حالی که، اسـب حسـاس ترین گونه می باشـد و میزان LD ۵۰ خوراکی در اسـب برابر ۰/۱ گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن محاسـبه شـده اسـت (۶۳). میـزان LD ۵۰ در تزریـق داخل وریدی ریسـین برای مـوش صحرایی ۰/۵-۰/۳۵ میکروگرم بـر کیلوگرم، در خوکچه هندی ۰/۵-۰/۴ میکروگـرم بر کیلوگرم، در خرگوش ۰/۰۶ -۰/۰۳ میکروگرم بر کیلوگرم و در سـگ ۱/۷۵-۱/۶۵ میکروگرم بر کیلوگرم از وزن بدن گزارش شده است (۶۳).
این در حالی اسـت که سـمیت RCA120 با توجه به مطالعات حیوانی در حـدود ۱۰۰۰ بار کمتر از ریسـین برآورد شـده و LD ۵۰ آن در موش سوری در تزریق داخل صفاقی در حدود ۸ میلی گرم بر کیلوگرم محاسبه شده است (۱۳).

۲- سمیت در انسان

با توجه به مطالعات تجربی در حیوانات و گزارش های موردی در زمینه مسـمومیت‌های اتفاقی در انسان با دانه‌های کرچک، دوز کشنده میانه ریسـین در انسـان در حدود ۲۰-۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم از وزن بدن، برآورد شـده است (۱۳، ۳، ۱). میزان تقریبی LD ۵۰ و متوسط زمان بروز مرگ در مصرف ریسـین از راه استنشـاقی در انسان به ترتیب ۳ میکروگرم بر کیلوگرم از وزن بدن و ۷۲-۳۶ ساعت می‌باشد. در مصرف خوراکی این مقادیـر به ترتیب عبارتند از :۳۰ میکروگرم بر کیلوگرم و ۸-۶ روز. در تجویز سـم از راه تزریق داخل وریدی میزان LD ۵۰ برابر ۳ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن و متوسـط زمان بروز مرگ ۷۲-۳۶ سـاعت، و در تجویز از راه تزریق زیرپوستی این مقادیر به ترتیب ۵۰۰ میکروگرم و ۶-۳ روز گزارش شده‌اند (۵۹، ۱).
هرچند اسـتعداد گروه‌های خاص افراد مانند: کودکان، سـالخوردگان، زنـان بـاردار، بیماران دچـار بیماری‌هـای نقص سیسـتم ایمنی و یا بیماری‌های گوارشـی در مسـمومیت با ریسـین به طور کامل مطالعه نشده است با این حال، وجود آسیب و التهاب بافتی می تواند ورود سم به بدن و شدت مسمومیت را افزایش دهد (۶۲).

انواع مسمومیت‌های ناشی از ریسین در انسان

۱- مسمومیت های تصادفی (Accidental poisoning)

مسمومیت‌های اتفاقی با ریسین بیشتر در اثر مصرف خوراکی دانه‌های گیاه کرچک و بیشـتر در کودکان زیر ۱۲ سـال در برخی از کشورهای جهان که گیاه در آن مناطق رویش دارد، گزارش شده است (۶۸-۶۴).

با توجه به ظاهر زیبا و شباهت دانه‌های کرچک به لوبیا، بسیاری از کودکان به علت کنجکاوی و به صورت تصادفی تعدادی از دانه های گیاه را بلع می‌نمایند. این نوع مسمومیت‌ها بیشتر در کودکان ساکن در نواحی روستایی و یا آن دسته از کودکانی که گیاه کرچک در محل زندگی آن ها وجود دارد، گزارش شده است. به صورت کلی، شدت مسمومیت در این موارد کم و میزان مرگ و میر متغیر است. عواملی مانند اندازه، وزن، میزان رطوبت موجود در دانه ها، تعداد دانه‌های بلع شده، جویدن دانه ها قبل از بلع، شرایط آب و هوایی محل رویش گیاه، نژاد گیاه، فصل و سن گیاه، وجود مواد غذایی در معده، سن بیمار، و وجود بیماری‌های همراه می تواند در بروز تفاوت در سرانجام بیمار در این نوع از مسمومیت‌ها موثر باشد. در گزارش های بالینی، تعداد دانه هایی که سبب بروز مسمومیت های شدید و حتی کشنده می شوند از یک تا ۳۰ دانه متغیر است (۱۳).

در مطالعه انجام شده در یک مرکز بیمارستانی در سریلانکا در فاصله زمانی ۲۰۰۱-۱۹۸۴، در مجموع ۴۶ مورد مسمومیت تصادفی با گیاه کرچک بدون موردی از مرگ و میر گزارش گردید (۶۹).

در گزارش ارایه شده از سوی جامعه مراکز کنترل مسمومیت آمریکا (American Association of Poison Control Centers)در فاصله سال‌های ۲۰۰۹-۱۹۸۳ نشان داده شد که از میان بیش از دو میلیون مورد مسمومیت با گیاهان گزارش شده به این مراکز، تنها یک مورد مسمومیت منجر به فوت با گیاه کرچک وجود داشته است (۷۰).

در مطالعه انجام شده توسط Eid و همکاران در مصر، نشان داده شد که در فاصله سال های ۲۰۰۷-۲۰۰۳، از مجموع ۱۲۴ مورد مسمومیت ناشی از گیاهان ارجاع داده شده به بیمارستان عین الشمس قاهره، ۶۰ (۴۸٪) نفر به علت مسمومیت با گیاه کرچک بوده است. از میان بیماران دچار مسمویت با کرچک، ۵۶/۶ ٪ مرد و مابقی زن بودند. ۸۰٪ بیماران زیر ۱۲ سال بوده و نزدیک به ۷۸٪ آن ها در خیابان به علت کاشت گیاه و دسترسی به دانه های سمی آن، دچار مسمومیت با گیاه شدند. در تمامی موارد، راه ورود سم به بدن راه خوراکی گزارش شده است. متوسط زمان بستری بیماران در بیمارستان ۱۲/۹±۲۲ ساعت بود و مرگ و میری در بیماران گزارش نگردید (۷۱).

در مطالعه انجام شده توسط Plenert و همکاران در مرکز اطلاع رسانی مسمومیت ها در ارفورت آلمان نشان داده شد که در یک دوره زمانی ۱۰ ساله (از سال ۲۰۱۰- ۲۰۰۱)، در مجموع از میان ۱۳۰۰۱ مورد مسمومیت با گیاهان در انسان که در فاصله زمانی یاد شده به این مرکز گزارش شده اند، ۹۱/۶٪ مسمومیت تصادفی، ۲/۹٪ به ناشی از سوء مصرف، ۰/۹٪ خودکشی و در ۴/۶٪ از موارد با علت نامعلوم بوده‌اند. از نظر سنی، کودکان با ۸۷/۵٪ بیشترین گروه سنی را در میان مسمومین تشکیل می دادند. گیاه کرچک به عنوان یکی از گیاهان مسوول بروز مسمومیت گزارش گردید. با این وجود در این مطالعه، هیچ موردی از بروز مرگ در اثر مسمومیت با گیاه کرچک گزارش نگردید (۶۸). در ضمن ۸۵/۵٪ از این مسمومیت های گیاهی از نوع خفیف، ۱/۷٪ از نوع متوسط و ۰/۱٪ از نوع شدید گزارش گردیدند (۶۸).

برخی از مسمومیت‌های تصادفی ناشی از ریسین در بزرگسالانی ایجاد می شود که از دانه‌ها و یا فرآورده‌های حاصل از استخراج دانه‌ها جهت مصارف دارویی و پزشکی مثلاً به عنوان ملین، مسهل، ضد سرفه و ضد روماتیسم و یا جهت سایر کاربردهای درمانی در طب سنتی به اشتباه استفاده نموده‌اند. به عنوان مثال، در یک گزارش موردی از کشور کره جنوبی، خانمی جهت درمان یبوست، تعداد ۵ دانه از کرچک را مصرف نمود. بعد از چند ساعت، بیمار با علایم و نشانه های تهوع، استفراغ، دردهای شکمی، اسهال و هیپوترمی به بیمارستان مراجعه نمود. ریسین در نمونه ادرار بیمار یافت گردید. بعد از انجام اقدامات درمانی علامتی و حمایتی، بیمار بعد از ۲ روز با حال عمومی خوب از بیمارستان مرخص شد (۶۷).

در گزارشی دیگر از کشور عمان، مردی که از یک دانه گیاه کرچک جهت درمان سرفه استفاده نموده بود، بعد از چند ساعت از مصرف با علایم و نشانه‌های اسهال، گیجی، اختلال در جهت یابی، میدریاز و افزایش ضربان نبض به بیمارستان مراجعه نمود. بعد از انجام اقدامات درمانی و تجویز زغال فعال، بیمار بعد از دو روز به حالت طبیعی برگشت (۷۲).

Assiri در سال ۲۰۱۲، یک مورد مرگ در اثر مسمومیت تصادفی ناشی از مصرف خوراکی داروی گیاهی حاوی پودر دانه کرچک را در یک مرد ۴۲ ساله ساکن عربستان گزارش نمود. بعد از مصرف خوراکی، بیمار با علایم گوارشی از جمله خونریزی گوارشی و افت شدید فشار خون به بیمارستان مراجعه نمود و بعد از مدتی دچار شوک و نارسایی تنفسی گردید و در نهایت به علت ایست قلبی فوت نمود (۷۳).

در گزارش موردی از مالت، پیرمرد ۷۰ ساله‌ای متعاقب خوردن ۱۰ عدد دانه کرچک به صورت اشتباهی و تصادفی، دچار تهوع، استفراغ، اسهال و دردهای شدید شکمی می‌شود و به بیمارستان مراجعه می‌کند. علیرغم وجود گاستروآنتریت، تاکیکاردی و افت فشار خون، متعاقب درمانهای علامتی و حمایتی، بعد از هفت روز از بیمارستان بدون عارضه ای پایدار مرخص می‌شود (۷۴).

در مجموع هر چند موارد متعددی از گزارش‌های موردی در رابطه با مسمومیت تصادفی با گیاه کرچک در انسان وجود دارد، با این وجود، در مقایسه با سایر مسمومیت های گیاهی، میزان مرگ و میر در مسمومیت های تصادفی با این گیاه به نسبت، پایین می‌باشد (۱۳).

۲- مسمومیت های عمدی (خودکشی)

گزارش‌های متعددی در زمینه استفاده از دانه های کرچک و یا سایر فرآورده‌های حاوی ریسین جهت خودکشی وجود دارد. با توجه به این که در موارد مسمومیت‌های عمدی جهت خودکشی نسبت به مسمومیت‌های تصادفی، بیمار از دوزهای بالاتر دانه ها و یا فرآورده‌های دست ساز حاوی ریسین استفاده می نماید، مسمومیت در این موارد شدیدتر و میزان مرگ و میر بالاتر است(۱۳ ،۳-۱).

در گزارش موردی از لهستان، مردی متعاقب تزریق عمدی زیر جلدی

عصاره دانه های کرچک، بعد از ۳۶ ساعت با علایم و نشانه های تهوع، ضعف شـدید، گیجی و درد به بیمارسـتان ارجاع داده شد. بعد از چند سـاعت دچار خونریزی شدید گوارشی و نارسایی چند ارگانی گردید و بعد از ۱۸ سـاعت از پذیرش در بیمارسـتان با تابلوی توقف قلبی فوت نمود (۷۵).

در گزارشی دیگر، یک شیمی‌دان جهت خودکشی، عصاره استونی دانه های کرچک را به صورت داخل وریدی به خود تزریق نمود. در بدو ورود به بیمارسـتان وی فاقد علامت بود. وی به سـرعت دچار تهوع، اسهال خونی، افت فشـار خون و کاهش سطح هوشیاری گردید. و در طی ۱۲ ساعت بستری در بخش مراقبت های ویژه، فوت نمود (۷۶).

در گزارشـی موردی از کشور بلژیک، مردی ۴۹ ساله، جهت خودکشی ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره اسـتونی دانه کرچک را به صورت داخل وریدی و زیر پوسـتی به خود تزریق نمود. ۲۴ ساعت بعد، بیمار در بیمارستان با علایم و نشـانه‌های تهوع، استفراغ، اسـهال، سرگیجه، درد عضلانی، تنگی نفس مراجعه نمود و علیرغم انجام اقدامات درمانی، ۹ ساعت بعد به علت نارسایی چند ارگانی فوت نمود (۷۷).

در گزارشـی دیگر از نروژ، مردی ۴ سـاعت بعـد از مصرف خوراکی و تزریق عصاره دانه های کرچک، به بیمارسـتان ارجاع داده شـد ولی با وجود انجام اقدامات درمانی، ۳۸ ساعت بعد فوت نمود (۷۸).

اگرچـه در مواردی که خودکشـی از طریـق تزریق عصـاره دانه‌های کرچک و فرآورده‌های دسـت سـاز آن سبب مسـمومیت‌های شدید و مرگ شده‌اند، با این وجود گزارش‌هایی مبنی بر مصرف خوراکی تعداد زیاد دانه‌های کرچک به قصد خودکشـی وجود دارد که هر چند با بروز مسمومیت شدید همراه بوده اند، ولی با انجام اقدامات درمانی مناسب، بیمار از مرگ نجات یافته است (۷۹).

۳- مسمومیت های جنایی و بیوتروریسم

۱- ریسین: ماده ای با کاربردهای دوگانه

کاشـت وسـیع گیاه کرچک و تولید سـالانه مقادیر متنابعی از روغن کرچک در جهان جهت کاربردهای دارویی، آرایشـی و صنعتی سـبب شـده که منبعی در دسترس، ارزان قیمت و آسان برای ریسین موجود باشـد (۵-۱). ریسـین ماده ای اسـت با کاربردهای دوگانه، که هم به عنوان یک ابزار درمانی در پزشـکی مطرح اسـت و هـم به عنوان یک سـم طبیعی قوی جهت ایجاد مسـمومیت های جنایی، بیوتروریسم و به عنوان یک جنگ افزار بیولوژیک از دسـته سلاح های کشتار جمعی (Weapon of Mass Destruction) محسوب می شود (۱۳، ۵، ۴، ۱).

یکـی از کاربردهـای درمانـی ریسـین، اسـتفاده از آن در تولیـد ایمونوتوکسـین‌ها می‌باشد. ایمونوتوکسین دسـته‌ای از داروهای مورد اسـتفاده در درمان انواع سـرطان‌ها می‌باشـند که در آن ها از اتصال یـک مولکول سـم به یک آنتی بادی مونوکلونـال اختصاصی علیه یک شاخص سطحی در سـلول بدخیم استفاده می‌شود. استفاده از زنجیره A ریسـین به عنـوان اولین نمونه از ایمونوتوکسـین هـا در اتصال به مولکول آنتی بادی‌های مونوکلونال ضد شاخص‌های سطحی سلول‌های بدخیم، جهت درمان انواع سـرطان ها از جمله سرطان های مغز از نوع لپتومننژیال، ملانوما و تومورهای معده مورد اسـتفاده قرار گرفته است (۸۱، ۸۰، ۵۸). هر چند بروز برخی از عوارض جانبی شدید در بیماران مانند سندرم نشت عروقی (Vascular Leak Syndrome) در اثر تجویز این نوع ایمونوتوکسین، کاربرد وسیع درمانی آن ها را با محدودیت‌های بالینی مواجهه نموده اسـت، با این وجود تحقیقـات دامنه داری برای کاهش این عارضه تاکنون ادامه دارد (۸۳، ۸۲).

۲- ریسین به عنوان یک جنگ افزار بیولوژیک

تاریخچه اسـتفاده از ریسـین به عنوان یک سـلاح بیولوژیک به جنگ جهانی اول بر می‌گردد. در این جنگ، تحقیقات بر روی به کارگیری از ریسـین به عنوان جنگ افزار انجام شـد و دو روش در زمینه استفاده از ریسـین در میادین نبرد از طریق اسـتفاده از گلوله ها و خمپاره‌های حاوی ریسـین و اسـتفاده از "ابر ریسین" جهت ورود سم از راه ریه ها به بدن پیشـنهاد گردید (۱). با این وجود به علت عدم پایداری ریسین در دمـای بالا و برخی از ملاحظات اخلاقـی از به کارگیری آن در طی جنـگ جهانی اول خودداری شـد (۱۳، ۱). در طی جنگ جهانی دوم، آمریکا و متفقین صدها کیلوگرم ریسـین را در قالب بمب های موسوم بـه "W bomb" تهیه نمودند، با این وجود در طی جنگ از این بمب ها استفاده نگردید. بعد از پایان جنگ جهانی دوم، دوره استفاده از ریسین به عنوان سـلاح بیولوژیک، با روی آوردن به سموم جدید مانند سارین کاهش پیدا نمود (۸۴، ۱۳، ۵، ۴، ۱).

در دوران جنگ سرد، تحقیقات بر روی استفاده از ریسین به عنوان یک سلاح زیسـتی در آزمایشـگاه های تحقیقات نظامی ارتش سرخ اتحاد جماهیر شوروی سابق ادامه پیدا کرد (۱).

یکـی از جاه طلبانه‌تریـن اقدامات در خصوص تولیـد جنگ افزارهای شیمیایی و بیولوژیک از جمله ریسین در جهان در دوران بعد از جنگ جهانی دوم، توسـط حکومت عراق در دوران صدام حسـین- دیکتاتور معدوم- صورت گرفت. برنامه تولید تسـلیحات بیولوژیک عراق از سال ۱۹۷۴ با کمک متخصصان و دانشـمندان روسـی، فرانسـوی و سایر کشـورهای اروپایی شـروع شـد و منجر به ایجاد بزرگتریـن زرادخانه سـلاح‌های بیولوژیـک در خاورمیانه گردیـد. به طوری کـه در پایان سـقوط حکومت صدام و بر طبق گزارش های بازرسـان سـازمان ملل در سـال ۱۹۹۱، ارتش عراق در این مدت دارای ۱۶۶ بمب (مجهز به کلاهک های حاوی سـم بوتولینیوم بـه تعداد ۱۰۰عدد، آنتراکس ۵۰ عدد و آفلاتوکسـین ۱۶ عدد)، ۲۵ موشک بالیسـتیک اسکاد (موسوم به الحسـین) مجهز به کلاهک‌های حاوی سم بوتولینیوم، آفلاتوکسین و آنتراکـس و مقادیر متنوعـی از راکت‌های ۱۲۲ میلی متری مجهز به کلاهک‌های بیولوژیک و تانکرهای اسـپری‌کننده سموم از طریق هوا و قابل نصب بر روی هواپیما بوده است. در طی این برنامه، عراق توانست در حدود ۳۸۰/۰۰۰ لیتر سم بوتولینیوم، ۸۴۲۵۰ لیتر اسپور سیاه زخم

(آنتراکس) و ۲۲۰۰ لیتر آفلاتوکسین تولید نماید (۸۵). یکی از سموم مورد توجه در این برنامه برای تولید جنگ افزار بیولوژیک، ریسین بود. با این وجود آمار دقیقی در مورد میزان سم تولید شده و توانایی ارتش عراق در تولید این نوع جنگ افزار منتشر نشده است. با این وجود گزارش شد که در سال ۱۹۸۹، در حدود ۱۰ لیتر از محلول تغلیظ شده ریسین در پارک سلمان در جنوب بغداد، تولید شد. مقداری از این سم جهت آزمایش‌های حیوانی و مقداری نیز در گلوله های توپ بارگیری شده بود (۸۶).

ریسین در حال حاضر جزء گروه I عوامل شیمیایی سمی مشمول کنوانسیون منع تولید، توسعه، انباشت و به کارگیری سلاح‌های شیمیایی و کشتار جمعی می‌باشد. در ضمن، استفاده عمدی از ریسین و سموم مشابه در جنگ‌ها بر طبق کنوانسیون ۱۹۷۲ در زمینه توسعه، تولید، انباشت و به کارگیری جنگ افزارهای سمی و باکتریولوژیک، ممنوع می باشد (۱).

با وجود سمیت ریسین و انجام تحقیقات گسترده در زمینه به کارگیری آن در جنگ های نوین، با این وجود استفاده از آن به عنوان یک سلاح بیولوژیک، قابل تامل است. ریسین نسبت به سایر سموم مورد استفاده در جنگ افزارهای بیولوژیک مانند سم بوتولینیوم و سیاه زخم، دارای سمیت کمتری است و این امر نیاز به کارگیری مقادیر بالایی از سم در میادین نبرد را برای بروز آسیب و کشتار قابل توجه الزامی می سازد (۱۳، ۵، ۱).

۳- استفاده از ریسین در بیوتروریسم و مسمومیت های جنایی

هر چند به کارگیری و کارآیی ریسین به عنوان سلاح بیولوژیک در میدان‌های نبرد واقعی با شبهه همراه است، با این وجود استفاده از ریسین به عنوان ابزار جهت ترور و بروز جرم مناسب است. استفاده از ریسین به عنوان سلاحی جهت بیوتروریسم و مسمومیت‌های جنایی از نیمه دوم قرن بیستم مورد توجه سرویس‌های امنیتی، جاسوسی، نظامی، گروه‌های تروریستی و جدایی طلب، مجرمان حرفه‌ای و شبکه‌های حرفه‌ای جرایم سازمان یافته در سطح بین‌المللی بوده است و تا به امروز استفاده از آن به عنوان یک تهدید جهانی و روزافزون وجود دارد.

سهولت دسترسی به گیاه و دانه‌های کرچک به عنوان منبع ریسین، کاشت آسان و قانونی گیاه، سهولت استخراج سم از دانه‌های گیاه، پایداری فیزیکی مناسب سم، ارزان بودن و در دسترس بودن روش‌های استخراج سم از ماده خام اولیه گیاهی، سمیت و کشندگی بالا، بروز علایم و نشانه‌های بالینی غیراختصاصی در مسموم که تشخیص سریع عامل بروز مسمومیت را دشوار می سازد، بطئی بودن زمان بروز تظاهرات بالینی مسمومیت، دشوار بودن و وقت گیر بودن فرآیند شناسایی سم در نمونه‌های زیستی، از جمله مهم‌ترین دلایل بکارگیری ریسین در مسمومیت‌های جنایی و بیوتروریستی می‌باشد (۹۰-۸۷). این امر به همراه بروز جوی از وحشت در جامعه متعاقب کاربرد آن در حملات بیوتروریستی، می تواند سبب بروز آشوب روانی و بی نظمی در اجتماع گردد. با توجه به موارد ذکر شده، مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌های آمریکا (US Center for Disease Control and Prevention=CDC) ریسین را در زمره گروه B عوامل مورد استفاده در حملات بیوتروریستی و در ردیف عوامل باکتریایی، ویروسی، کلامیدیایی، ریکتزیایی و توکسین‌هایی مانند:

Coxiella burnetii , Brucella spp, Burkholderia mallei, B. pseudomallei, alphaviruses (VEE, EEE, WEE), Rickettsia prowazekii, toxins (e.g., ricin, Staphylococcal enterotoxin B, epsilon toxin of

Clostridium perfringens, Chlamydia psittaci, , Salmonella spp., Escherichia coli O157:H7, Shigella), Vibrio cholerae , Cryptosporidium parvum

قرار می دهد (۱).

یکی از مهم‌ترین و مشهورترین موارد استفاده از ریسین در ترور، قتل ناراضی بلغاری گئورگی مارکوف (Gerogi Markov) در سال ۱۹۷۸ می‌باشد. با توجه به این که قتل مارکوف، به عنوان اولین مورد شناخته شده در زمینه کاربرد ریسین در مسمومیت جنایی و بیوتروریسم است، لذا با جزئیات بیشتری به این مورد پرداخته می‌شود. مارکوف ۴۹ ساله، نویسنده و روزنامه نگار مخالف حکومت کمونیستی سابق بلغارستان بود که از سوی دولت وقت از کشور تبعید گردید. وی بعد از خروج از کشور به انگلستان رفت و به عنوان مجری و نویسنده با رادیو بی.بی.سی و رادیو اروپای آزاد همکاری می‌نمود و در انتشار افکار ضد کمونیستی علیه دولت وقت بلغارستان فعالیت می نمود. در صبح ۷ سپتامبر ۱۹۷۸، هنگامی که وی جهت رفتن به محل کار خود در ایستگاه اتوبوس نزدیک پل واترلو در لندن منتظر رسیدن اتوبوس بود، ناگهان سوزش دردناکی را در پشت ران راست خود احساس نمود. وی مرد چتر به دستی را مشاهده نمود که در بعد از معذرت خواهی از او از ایستگاه خارج و با یک تاکسی متواری شد. بعد از۵ ساعت وی دچار ضعف شدید گشت و بعد از مراجعت به خانه در طی ۲۴-۱۵ ساعت بعد، دچار تهوع و استفراغ و تب گشت. در روز بعد، به علت ادامه تب به بیمارستان سنت جیمز لندن مراجعه نمود. در معاینه اولیه، وجود زخم مدور با مرکز ملتهب در ناحیه پشت ران به اندازه ۲ میلی متر مشاهده شد. بیمار دارای فشار خون طبیعی در بدو ورو، تب و تورم و درد در ناحیه گره های لنفاوی بود. بعد از ۴۸ ساعت از بروز مسمومیت، وی دچار افت شدید و ناگهانی فشار خون، خونریزی گوارشی، افت دمای بدن، شوک هیپوولمیک و نارسایی کلیوی شد. با توجه به بروز لکوسیتوز و تب در بدو ورود برای بیمار تشخیص سپتی سمی گذاشته شد و تحت درمان با آنتی بیوتیک قرار گرفت. با این وجود، حال عمومی بیمار رو به وخامت گذاشت. در ساعات اولیه روز سوم، وی دچار آنوری و استفراغ خونی شد و ساعاتی بعد به علت بلوک کامل دهلیزی- بطنی فوت نمود. در کالبدشکافی به عمل آمده، وجود یک کره بسیار ریز فلزی به قطر ۱/۵۲ میلی متر (در حد نوک سنجاق)

در زیر پوست محل زخم مشاهده شد که بررسی های انجام شده نشان داد این کره از جنس آلیاژ پلاتین- ایریدیوم بوده است. کره دارای دو سوراخ کوچک به قطر ۰/۳۵ میلی‌متر در سطح و در امتداد قطر کره بود. هر چند آزمایش‌های انجام شده در آزمایشگاه مرکز تحقیقات دفاعی نتوانست وجود ماده سمی را در آن شناسایی نماید، با این وجود با توجه به شواهد بالینی و کالبدگشایی و مدل سازی تجربی، پزشکی قانونی انگلستان، ریسین را به عنوان عامل بروز مسمومیت و مرگ مارکوف معرفی نمود . دوز ریسین تزریق شده در این مورد با توجه به ابعاد گلوله کروی، در حدود ۰/۵-۰/۲ میلی گرم برآورد شد. هر چند تاکنون قاتل مارکوف شناسایی نگردیده، ولی بعدها پلیس مخفی بلغارستان به عنوان متهم ترور اعلام گردید و مشخص شد سلاح چتر مانند برای تزریق سم توسط اداره جاسوسی سابق شوروری (کا.گ.ب) در اختیار عوامل پلیس مخفی بلغارستان قرار داده شده بود(۱،۱۳، ۸۹-۸۷).

در همان سال، ولادیمتر کوستوف (Veladimir Kostov) دیگر ناراضی بلغاری در پاریس هدف حمله تروریستی با استفاده از ریسین قرار گرفت. در این مورد از تپانچه بادی برای پرتاب گلوله حاوی ریسین استفاده شد ولی وی از این ترور جان سالم به در برد (۱۳، ۱).

در سال ۱۹۸۱، جاسوس دوجانبه سازمان مرکزی اطلاعات آمریکا (CIA) به نام Boris Korczak تحت سوء قصد از طریق حمله با گلوله حاوی ریسین قرار گرفت ولی وی جان سالم بدر برد (۱۳ ،۱).

از آن تاریخ، موارد متعددی از بکارگیری ریسین در مسمومیت های جنایی و بیوتروریسم گزارش شد (۱).

همان گونه که ذکر شد، یکی دیگر از جنبه‌های تهدید کننده کاربرد ریسین، استفاده از این سم به عنوان یک ابزار بیوتروریستی توسط گروه های تروریستی مانند القاعده در سطح جهانی است. کشف آزمایشگاه های زیرزمینی و غیرقانونی القاعده در کشورهای افغانستان، عراق، فرانسه، اسپانیا، روسیه، گرجستان و انگلستان در فاصله سال‌های ۲۰۰۴-۲۰۰۱ که در زمینه تولید سلاح‌های بیولوژیک فعال بودند، نشان داد که در این آزمایشگاه ها دستورالعمل ها و جزوات آموزشی در زمینه استخراج ریسین از دانه های گیاه کرچک، نحوه خالص سازی و بکارگیری آن یافت گردید. همچنین نمونه هایی از پودر خالص ریسین تولید شده در این آزمایشگاه‌های مخفی، کشف شد. دستگیری متخصصان میکروبیولوژی و بیوشیمی عضو القاعده و مظنون به آموزش و تولید ریسین در این آزمایشگاه های مخفی وجود دارد (۹۱).

ارسال نامه‌های آغشته به ریسین برای سناتورها، مقامات دولتی آمریکا در سال ۲۰۰۴و حتی ارسال نامه های آغشته به ریسین به رئیس جمهور آمریکا – باراک اوباما- در سال ۲۰۱۱ بار دیگر توجه جهانیان را در زمینه به کارگیری ریسین به عنوان سلاح در حملات بیوتروریستی معطوف نمود (۹۳-۹۲). این امر یادآور ارسال نامه های آغشته به اسپور باسیل سیاه زخم بعد از حوادث تروریستی ۱۱ سپتامبر ۲۰۰۱ در آمریکا می باشد. احتمال بروز مسمومیت در تماس پوستی – به ویژه در مواردی که پوست زخمی و آسیب دیده است، ورود سم از طریق دست آلوده به ریسین به دهان، تماس چشمی- مخاطی و استنشاق ذرات پودر و آئروسل های ریسین در نامه های آغشته به ریسین، محتمل است، با این وجود شواهدی از انتقال ریسین از طریق تماس فرد به فرد گزارش نشده است . ولی احتمال انتقال ریسین به صورت استنشاق ذرات پودر شده و آئروسل در هوا وجود دارد (۹۳).

۴- علایم و نشانه های بالینی در مسمومیت با ریسین

علایم و نشانه‌های بالینی و شدت آن ها در مسمومیت با ریسین بسته به راه ورود سم به بدن و دوز سم تا حدودی با هم متفاوت می‌باشند (۲، ۱). با این وجود بطور کلی و صرف نظر از راه ورود سم به بدن، علایم و نشانه‌های بالینی در طی ۲۰- ۳ساعت بعد از ورود سم به بدن ایجاد می شوند و شدت آن ها در صورت دوز بالا، بیشتر می باشد. تهوع، استفراغ، دردهای شکمی، اسهال (خونی و یا غیر خونی)، درد عضلانی، گرفتگی اندام‌ها، دهیدراتاسیون، افت فشار خون، شوک و کلاپس قلبی – عروقی از مهم‌ترین یافته‌های بالینی می باشند. درد عضلانی به ویژه در محل تزریق و کلاپس قلبی-عروقی بیشتر در موارد تزریق سم مشاهده می‌شوند. یافته‌های آزمایشگاهی شامل افزایش گلبول‌های سفید در اوایل مسمومیت و لکوپنی در مراحل انتهایی آن، افزایش آنزیم های کبدی و افزایش میزان نیتروژن اوره خون(Blood Urea Nitrogen) نشان‌دهنده اختلال در کارکرد کبد و کلیه می‌باشند (۱۳، ۲ ،۱).

زمان متوسط حدوث مرگ بسته به شدت و راه ورد سم در طی ۷۲- ۳۶ ساعت بعد از ورود سم به بدن می باشد (۹۴).

مهم ترین تظاهرات بالینی مسمومیت بسته به راه ورود سم به بدن به شرح زیر است:

۱- راه تزریقی

در انسان بر اساس گزارش های موردی تظاهرات بالینی در تزریق زیر پوستی و یا داخل عضلانی دوزهای بالای ریسین شامل: درد، التهاب، اریتم و نکروز در محل تزریق، نکروز شدید گره های لنفاوی موضعی، بی اشتهایی، ضعف عمومی، تهوع، استفراغ، اسهال، درد شکمی، خونریزی گوارشی، نکروز کبدی، نفریت و اسپلنیت منتشره، سرگیجه، سردرد، گیجی، اختلال در جهت یابی، درد قفسه صدری، نارسایی کبدی و کلیوی، افت فشار خون، تب، افزایش ضربان قلب، شوک و ایست قلبی گزارش شده است (۱۳، ۲ ،۱).

۲- راه خوراکی

ریسین در مسمومیت از راه خوراکی به علت جذب کمتر و تخریب آنزیمی در روده‌ها دارای سمیت کمتری نسبت به تجویز از راه تزریقی و استنشاقی دارد. تظاهرات بالینی بسته به دوز و خصوصیات و تفاوتهای فردی می تواند متفاوت باشند. تهوع، استفراغ، دردهای شکمی، اسهال، خونریزی گوارشی، آنوری، میدریاز، گرفتگی عضلات، تب، تشنگی، گلودرد، سردرد، شوک و کلاپس قلبی- عروقی گزارش

شـده است. مرگ به طور متوسـط در روز سوم و به بعد اتفاق می افتد (۱۳ ،۲، ۱).

۳- راه استنشاقی

تاکنون گزارشـی مبنی بر بروز مسـمومیت استنشاقی ناشی از ریسین در انسـان وجـود ندارد و از ایـن رو، تظاهرات بالینـی در این مورد بر اساس مطالعات حیوانی می باشد. تنگی نفس، سرفه، سندرم دیسترس تنفسـی و ادم ریوی از تظاهرات بالینی در مسـمومیت استنشـاقی با ریسین محسوب می‌شوند (۱۳ ،۲، ۱).

بروز یک سندرم آلرژیک در کارگرانی که با دانه های کرچک در تماس هسـتند و یا در کارخانجات تولید روغن کرچک فعالیت دارند، گزارش شـده است. تظاهرات بالینی در این موارد، شامل بروز ناگهانی احتقان در بینی و گلو، خارش چشـم ها، کهیر، تنگی نفس. در موارد شـدید، ویزینگ تنفسی و بروز آسم برونشیال نیز گزارش شده است (۱).

علت مرگ و یافته های کالبد گشایی در مسمومیت های کشنده ناشی از ریسین

علت مرگ در مسـمومیت با ریسـین بسـته به راه ورود سـم به بدن می‌تواند متغیر باشـد. خونریزی شـدید دسـتگاه گوارشـی و شـوک هیپوولمیک ناشی از آن، ایسـت قلبی- تنفسی، نارسایی شدید کبدی و کلیوی در بسـیاری از موارد منجر به فوت ناشـی از مسمومیت‌های خوراکی و تزریقی ریسین به عنوان علل فوت گزارش شده‌اند (۱۳، ۱). در مطالعات حیوانی، آسیب شدید بافت ریوی و بروز ادم گسترده ریوی سـبب هیپوکسـمی و در نهایت نارسایی تنفسی و مرگ در مسمومیت استنشاقی با ریسین می‌شود (۱۳ ،۱).

مهم‌ترین یافته‌های کالبد گشـایی و آسـیب شناسـی پس از مرگ در بیماران فوت شده در مسمومیت با ریسین بسته به راه ورود سم به بدن به شرح زیر می باشند:

در مـوارد تزریقی: وجود اریتـم و نکروز در محل تزریـق، خونریزی و نکروز در عقده های لنفاوی محل نزدیک ناحیه تزریق، ادم ریوی، نکروز هموراژیک در مخاط معده و روده باریک، وجود کانونهای هموراژیک در آدرنال، پانکراس، بیضه ها، میوکارد، مغز و پلور (۹۵، ۱۳).

در موارد مصرف خوراکی: اولسراسـیون‌های مولتی فوکال و هموراژیک در مخـاط معـده و روده باریک، نکروز در عقده هـای لنفاوی مزانتر، طحال و بافت لنفاوی وابسـته به روده، نکروز کبد و ارتشاح سلول های کوپفر، التهاب منتشره در طحال و کلیه ها (۱۳، ۱).

۱- تشخیص

تشـخیص مسـمومیت با ریسین بیشـتر بر اساس شـرح حال بیمار و معاینه و مشـاهدات بالینی استوار است. وجود اطلاعات اپیدمیولوژیک در مورد وجود مسـمومیت های ناشی از ریسین در منطقه می‌تواند به تشخیص درسـت کمک نماید. در بیماران با سـابقه سوءقصد، معاینه کامـل از لحاظ وجود محل تزریق الزامی اسـت. به ویـژه در بیمارانی که دچار شـروع ناگهانی در بروز علایمی مشـابه سندرم نشت عروقی می‌باشـند. مسمویت با ریسین در بیمارانی که دچار خونریزی گوارشی و افت فشار خون متعاقب مصرف خوراکی غذا و یا فرآورده های گیاهی هستند، باید مورد توجه باشد.

در صورت احتمال بکارگیری اشـکال استنشـاقی ریسـین به ویژه در موارد جنگ‌های بیولوژیک و یا حملات بیوتروریستی، تشخیص افتراقی مسـمومیت استنشاقی با ریسـین با مواردی از قبیل: آنتروتوکسین B اسـتافیلوکوکی، پنومونی مکتسـبه از جامعه، سیاه زخم ریوی، تب Q، تولارمی، طاعون و یا مواجهه با محصولات ناشـی از پیرولیز پلیمرهای آلی فلوئوردار و سـلاحهای شیمیایی از دسته عوامل خفه کننده (مانند فسـژن) باید افتراق داد. در مسـمومیت های گوارشـی با ریسین باید موارد زیر را در تشخیص های افتراقی مورد توجه قرار داد: عفونت های گوارشی، مسمومیت با آنتروتوکسین ها، مسمومیت با مواد سوزاننده، قارچ ها، هیدروکربورها، سالیسیلات ها و کلشیسین (۱۳، ۲ ،۱).

۲- شناسایی و تعیین مقدار ریسین

همان گونه که قبلاً ذکر شـد، در موارد بالینی تشخیص بر اساس شرح حال و تظاهرات بالینی بیمار اسـتوار اسـت. با این وجود به علت عدم اختصاصی بودن علایم و نشـانه های بالینی مسـمومیت با ریسین، در مواردی که بیمار فاقد شـرح حال مناسب بوده و برخی از شواهد مانند وجود دانه‌های هضم نشده کرچک در مواد مستفرغه، محتویات معده و یا مدفوع مشـاهده نشود، تشخیص علت مسمومیت مشکل خواهد بود. در این موارد آنالیز ریسـین در نمونه های زیسـتی بیمار در تشخیص و یا تایید تشخیص افتراقی بسیار کمک کننده خواهد بود. (۱۳، ۱).

در سـم شناسـی قانونـی، در تمامی انـواع مسـمومیت‌های تصادفی، خودکشـی، جنایی و یا بیوتروریسـم ناشی از ریسـین، آنالیز کیفی و کمی آن در انواع نمونه های زیستی و غیرزیستی برای تایید علت بروز مسـمومیت، در کنار یافته های بالینی، کالبدگشـایی و آسیب شناسی ضروری اسـت. این امر در مواردی که علت واقعی مسـمومیت به دلیل فقدان شـرح حال و تاریخچه بیمار و مسـتندات بالینی مشخص نشده است، اهمیت بیشتری می‌یابد (۸۷، ۱۳ ،۱).

بـا توجه بـه موارد ذکر شـده، روش‌های مختلفی برای آنالیز ریسـین در انواع نمونه ها طراحی شـده اسـت. قابل ذکر است به علت ساختار شـیمیایی پیچیده سم، ناپایداری نسبی آن، مقادیر کم سم در مایعات زیسـتی و تمایل بالای سـم برای اتصال به بافت ها، آنالیز ریسـین در نمونه های زیسـتی، مشـکل بوده و نیازمند روش‌هایی با حساسیت و دقت بالا می‌باشد که این امر در نهایت منجر به کارگیری روش‌ها گران قیمت و وقت‌گیر در آنالیز ریسین می‌شود.

از انواع نمونه‌های زیسـتی مانند: خون، سـرم، پلاسما، ادرار، محتویات معده (در بیماران مسموم و اجساد) و بافت‌ها (در اجساد) و یا نمونه‌های غیرزیسـتی مانند نمونه‌های مواد غذایی و آشامیدنی، سرنگ (در موارد تزریقی) و یا خاک و سـایر نمونه‌های جمع‌آوری شـده از صحنه جرم برای آنالیز ریسین می‌توان استفاده نمود (۱۳، ۱).

روش های ایمنوآسی

یکی از مهم‌ترین روش‌های مورد استفاده جهت آنالیز کیفی و کمی ریسین در نمونه‌های زیستی در سم شناسی بالینی استفاده از روش‌های مبتنی بر واکنش آنتی ژن- آنتی بادی است. قابل ذکر است از این روش ها در سم شناسی قانونی به عنوان آزمون های غربالی و اولیه استفاده می‌شوند (۸۷، ۱۳، ۱).

از روش رادیو ایمنوآسی Radioimmunoassay (RIA) جهت اندازه‌گیری ریسین در نمونه‌های زیستی بیماران مسموم استفاده شده است. در روش ارایه شده توسط Godal و همکاران جهت آنالیز ریسین در نمونه های ادرار و پلاسمای بیماری که با ۳۰ عدد دانه کرچک مسموم شده بود، حداکثر غلظت ریسین در پلاسمای بیمار در روز اول مسمومیت ۱/۵ نانوگرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. نیمه‌عمر بیولوژیک دفع ریسین، ۸ روز برآورد شد. ریسین تنها در روز سوم در ادرار بیمار با غلظت ۰/۳ نانوگرم در میلی لیتر اندازه گیری شد (۹۶). با توجه به محدودیت های RIA، از جمله خطر کار با مواد رادیواکتیو، استفاده از این روش در آزمایشگاه های سم شناسی کمتر شده است (۵۸).

یکی دیگر از روش های ایمنوآسی مورد استفاده جهت آنالیز ریسین، Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) می باشد (۹۷).

از روش ELISA برای اندازه گیری ریسین در نمونه های بافت در مدل های حیوانی مسمومیت با ریسین استفاده شده است. استفاده از کمپلکس ایمونوپراکسیداز آویدین-بیوتین در روش ELISA موجب تقویت پاسخ ها گردیده و حد آشکارسازی ریسین در عصاره بافتی را تا میزان ۰/۲ نانوگرم در میلی لیتر کاهش داده است (۹۷).

اخیراً Chen و همکاران موفق به توسعه و معتبرسازی یک کیت الایزا جهت آنالیز ریسین در انواع نمونه های زیستی و محیطی گردید. این کیت قادر به آنالیز کمی ریسین در نمونه‌های خون تام و مدفوع مسمومین می باشد و نکته جالب این است که حساسیت این روش جهت آنالیز ریسین در نمونه مدفوع و مدت زمان لازم برای آنالیز در مقایسه با نمونه خون بیشتر گزارش گردیده است و یکی از مهم ترین مزایای کیت جدید نسبت به سایر انواع موجود در بازار، توانایی آن جهت غربال ریسین در انواع نمونه های زیستی و محیطی می باشد (۹۸).

یکی از مهم‌ترین محدودیت‌ها در روش ELISA، وقت گیر بودن آن است که این امر به ویژه در موارد مسمومیت‌های جنایی و بیوتروریسم، سبب از دست رفتن زمان طلایی برای تشخیص و درمان مسمومیت می‌گردد (۱۳ ،۱).

در روش ایمنوآسی با آشکارسازی کمی لومینوسانس (Chemoluminesce) حد اندازه‌گیری ریسین در نمونه بافت به محدوده ۱-۰/۱ نانوگرم در میلی‌لیتر رسید (۹۹).

با توجه به زمان بر بودن روشهای ذکر شده، تحقیق در مورد روش‌های تشخیصی سریع‌تر که زمان حصول نتایج در آن به کمتر از یک ساعت برسد، مورد توجه محققان قرار گرفته است. یکی از فن‌آوری‌هایی که در رابطه با تشخیص سریع ریسین در نمونه‌ها موردارزیابی قرار گرفته است، استفاده از حسگرهای فیبر نوری و یا شناسایی الکتریکی می‌باشد (۱۰۰). در ضمن، استفاده از روش‌های ایمنوکروماتوگرافی تک مرحله ای جهت آنالیز سریع نمونه های زیستی به صورت On-site متداول شده است (۱۰۱).

روش های کروماتوگرافی و طیف سنجی

با توجه به بروز واکنش‌های متقاطع بین مولکول‌های با ساختار شیمیایی مشابه با مولکول ریسین که در ماتریس نمونه با غلظت بالاتر موجود می‌باشند، با آنتی‌بادی‌های ضد ریسین در روش‌های ایمنوآسی، احتمال بروز پاسخ های مثبت کاذب در این آزمون ها وجود دارد، از این رو، به ویژه در موارد سم شناسی قانونی، لزوم استفاده از آزمون های تاییدی با اختصاصی بودن و حساسیت بیشتر احساس می شود (۱۳، ۸۷).

یکی از مهم‌ترین و قدرتمندترین روش‌ها برای شناسایی و تعیین مقدار ریسین در نمونه‌های زیستی و غیرزیستی روش کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی (Gas Chromatography- Mass Spectrometry=GC-MS) می‌باشد. استفاده از فن‌آوری‌ها جدید برای یونیزاسیون و جداسازی یون– مولکول‌ها در سیستم‌های GC-MS مانند: یونیزاسیون الکترواسپری (Electrospary Ionization) و matrix-assisted laser-desorption/ionisation time-of-flight (MALDI-TOF) که در قالب سیستم های GC-ESI-MS و GC-MALDI-TOF-MS می‌توانند در آنالیز ریسین مورد استفاده قرار گیرند. استفاده از روش کروماتوگرافی مایع – طیف سنجی جرمی (Liquid Chromatography- Mass Spectrometry=LC-MS) و یا استفاده از ردیاب‌های طیف‌سنج جرمی به صورت مضاعف در شکل LC-MS-MS از دیگر روش های آنالیز ریسین محسوب می‌گردد (۱، ۱۳، ۱۰۲،۱۰۳). با این وجود به علت پیچیدگی در ساختار مولکولی ریسین و ماتریس‌های نمونه، جهت افزایش حساسیت روش و جلوگیری از تداخلات احتمالی، نیاز در زمینه بکارگیری روش‌های استخراج و آماده‌سازی نمونه با استفاده از ستون‌های ایمونوآفینیتی قبل از آنالیز دستگاهی ضروری است (۱۰۶-۱۰۳). تلفیق این روش‌ها موجب شده تا حد آشکارسازی ریسین در نمونه های پیچیده تا میزان ۰/۶۴ نانوگرم در میلی لیتر کاهش یابد (۱۰۶).

اخیراًMa و همکاران توانستند در نمونه سرم، به روش magnetic immunocapture enrichment با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ضدریسین متصل به ذرات مغناطیسی (Magnetic beads) باعث تغلیظ آنالیت در نمونه شده و پس از هضم آن بوسیله تریپسین به روش LC-ESI-MS-MS ریسین را اندازه‌گیری نمایند. حد آشکارسازی این روش

۵ نانوگرم در میلی لیتر از ریسین در سرم گزارش گردید (۱۰۷).

روش های سلولی و مولکولی

روش‌های ذکر شـده قبلی، توانایی تفکیک بین اشکال فعال و غیرفعال ریسـین را ندارند. نیاز به شناسـایی و تفکیک اشکال فعال از غیرفعال توکسـین، به ویژه در موارد استفاده ریسـین در حملات بیوتروریستی و یا موارد جنایی ضروری اسـت (۱۰۸). بـرای این منظور، بکارگیری آزمون‌های عملکردی مانند روش‌های زیسـت سنجی (Bioassay) در حیوانات آزمایشگاهی و یا استفاده از روش‌های سمیت سلولی به صورت in vitro وجـود دارد. بـا توجه به توانایی ریسـین در غیرفعال نمودن ریبوزوم‌ها، یکی از روش‌های جهت تمایز بین اشـکال فعال از غیرفعال مولکول ، مجاورت سم با ریبوزوم ها در محیط in vitro و عاری از سلول می‌باشد (۱۳).

بعد از شناسایی مکانیسم مولکولی ریسین در دپورینه نمودن آدنوزین، برخی از روش‌های مانند کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا، با ردیاب‌های فلوئورسانس، طیف سـنج جرمی و ماورای بنفش و یا استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain reaction=PCR) برای بررسی عملکرد ریسین مورد بررسی قرار گرفتند (۱۱۰، ۱۰۹).

ریسینین، به عنوان بیومارکر مسمومیت با ریسین

با توجه به وجود مشـکلات عملی در زمینه آنالیز ریسین در نمونه‌های واقعی، امروزه از ریسـینین به عنوان بیومارکر مسـمومیت با ریسـین اسـتفاده می شود. همان گونه که قبلاً ذکر شد ریسینین یک آلکالوئید پی‌پیریدینی با وزن مولکولی ۱۶۴/۲ دالتون بوده و در مطالعات حیوانی دارای خاصیت تحریک اعصاب مرکزی می‌باشد. این ترکیب در دماهای نزدیک به ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد نیز پایدار می‌باشد. با توجه به پایداری و وزن مولکولـی کم این ماده، اسـتخراج و سـنجش آن در نمونه‌های زیسـتی با استفاده از روش‌های متداول و ارزان قیمت امکان‌پذیر است (۱۳). ریسینین توسط انواع روش‌های استخراج مایع – مایع و استخراج فـاز جامد از انواع نمونه‌های زیسـتی و غیرزیسـتی مانند نمونه‌ها دانه کرچک، غذا و خوراک دام اسـتخراج می‌شود (۱۳). ریسینین به روش کروماتوگرافـی کاغذی و کروماتوگرافی نازک لایه با شناسـایی ماورای بنفش، کروماتوگرافی مایع با کارکـرد بالا مجهز به ردیاب‌های ماورای بنفش، فلوئورسـانس و طیف سـنج جرمی و یا توسـط کروماتوگرافی گازی- طیف سـنجی جرمی در انواع نمونه ها قابل شناسایی می باشد (۱۱۲، ۱۱۱، ۷۸، ۱۰).

ریسـینین به همراه ریسـین از دانه های کرچک اسـتخراج شده و در عصاره خام دانه، قابل شناسـایی اسـت. بنابراین، تایید مسـمومیت با دانه‌های گیاه کرچک، از طریق شناسـایی ریسـین در انواع نمونه‌های خون، ادرار، محتویات معده، بافت‌های کبد و کلیه در مسمومیت های انسانی و حیوانی، امکان پذیر است (۱۳).

درمان

با وجـود تحقیقاتی که بر روی مهار کننده‌های جایگاه فعال زنجیره A ریسـین و یا آنتاگونیست های گیرنده‌های زنجیره B در سطح سلولی شـده است، با این وجود هیچگونه پادزهر اختصاصی تاییدشده‌ای برای مصارف بالینی در درمان مسـمومیت با ریسـین در حال حاضر موجود نمی‌باشـد. از اینرو، درمان مسـمومیت با ریسـین به صورت علامتی و حمایتی می‌باشد. در موارد مسمومیت خوراکی، تجویز زغال فعال شده (بـا دوز ۱ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، برای بزرگسـالان ۱۰۰-۵۰ گرم)، تجویز مسـهل و سایر اقدامات آلودگی زدایی گوارشی (لاواژ معده) انجام می شـود. تجویز مایعات وریـدی و الکترولیت ها و انجام آزمون های بررسی عملکرد کبد و کلیه الزامی است. کلیه بیماران بدون علامـت (حتی بعـد از مصرف خوراکی یک عـدد از دانه کرچک)، باید به مدت ۶-۴ سـاعت تحت نظر باشـند. در موارد، مواجهه استنشاقی، تجویز اکسـیژن و برقراری تهویه مکانیکی مناسب برای بیمار ضروری است. در موارد مواجهه با آئروسل های حاوی ریسین، استفاده از تهویه ریوی با فشار مثبت (Positive-pressure ventilator therapy)، تجویز داروهـای ضـد درد، ضد التهـاب، مایعات داخل وریـدی و جایگزینی الکترولیت‌ها باید مورد توجه باشد. در موارد تماس پوستی و یا چشمی، شستشـو موضعی با آب و یا نرمال سـالین ضروری اسـت. در تماس چشمی، شستشو با نرمال سالین به مدت حداقل ۱۵ دقیقه توصیه می شـود. درمان حمایتی کلیه اختلالات انعقادی، ریوی، کبدی، کلیوی و قلبی – عروقی باید انجام شود (۳-۱، ۱۳، ۹۳).

پیشگیری از مسمومیت های جنایی و بیوتروریستی ناشی از ریسین

در سال‌های اخیر استفاده از انواع واکسن‌های نوترکیب برای پیشگیری از بروز مسمومیت در نظامیان، نیروهای امنیتی، انتظامی، افراد بررسی کننـده صحنه های جرم بیوتروریسـتی و تمامی افـرادی که در خطر مسمومیت های استنشاقی با ریسین در اثر کاربرد آن به عنوان جنگ افزار بیولوژیک و یا به عنوان ابزار بیوتروریستی می باشند، توصیه شده اسـت (۱، ۱۳). به عنوان مثال، واکسـن با نام تجاری RiVax® حاوی پروتئین نوترکیب اسـت که با ایجـاد جهش در نواحی فعال زنجیره A ریسین که دارای فعالیت آنزیمی بوده و یا دخیل در بروز سندرم نشت عروقی می باشند، تهیه شده است. این واکسن مطالعات حیوانی و فاز I مطالعات انسـانی را با موفقیت سپری نموده است و نتایج نشان داده اند که در افراد داوطلب به خوبی تحمل شده است(۱۱۶-۱۱۳).

استفاده از آئروسـل حاوی ایمنوگلوبولین (IgG) ضد ریسین به عنوان پیشـگیری غیرفعال، قبل از تماس با ریسین از طریق استنشاقی، یکی دیگر از جنبه های پیشـگیری از این نوع مسـمومیت در بین افراد در معرض خطر است (۱۱۸، ۱۱۷).

نتیجه گیری

ریســین به عنوان یک سم طبیعی قوی از دانه‌های گیاه کرچک حاصل می‌شــود. به علت فراوانی و سهولت کاشــت گیاه، پایداری سم، سمیت بالا، ارزان بودن اســتخراج ریسین از گیاه، استفاده از این سم به عنوان جنگ افزار بیولوژیک از اوایل قرن بیســتم مورد توجه بوده اســت. هر چند گزارشــی از بکارگیری این ســم در میادین نبرد وجود ندارد، ولی گزارش‌های متعددی از اســتفاده ریســین در مسمومیت‌های جنایی و حملات بیوتروریســتی از سوی سرویس‌های امنیتی، مجرمان حرفه‌ای و گروه‌های تروریســتی وجود دارد. علاوه بر این، بروز انواع مسمومیت های تصادفی و عمدی (خودکشــی) در اثر مصــرف دانه های کرچک، عصاره ها و یا فرآورده های دست ساز آن که طب محلی کاربرد دارند، قابل توجه می باشد. این موارد باعث شده است که مسمومیت با ریسین از دیدگاه سم‌شناســی بالینی و قانونی دارای اهمیت زیادی باشد. عدم اختصاصی بودن علایم و نشــانه‌های بالینی در این نوع مســمومیت‌ها سبب شده تا اساس تشــخیص مسمومیت بر پایه شرح حال، تاریخچه بیمــار و مطالعات اپیدمیولوژیک باشــد. با این وجود آنالیز ریســین در انواع نمونه‌های زیستی و غیرزیستی جهت اثبات مسمومیت به ویژه در موارد جنایی و بیوتروریســتی الزامی است. از روش‌های ایمنوآسی برای آنالیزهــای غربالی و از تلفیق روش‌های کروماتوگرافی و جرم ســنجی برای تایید مسمومیت‌ها استفاده می‌شود. با توجه به مشکل بودن آنالیز ریســین در نمونه‌ها، شناسایی ریسینین به عنوان بیومارکر جهت تایید مسمومیت با دانه‌های کرچک پیشنهاد شده است. اساس درمان بر پایه اقدامــات علامتــی و حمایتی بوده، تاکنون پادزهــر و روش اختصاصی تایید شــده‌ای برای درمان این مســمومیت وجود ندارد. پیشــگیری با استفاده از واکسن در افراد در معرض خطر مواجهه استنشاقی با ریسین مورد بررسی قرار گرفته است.

References

1- Roxas-Duncan VI, Smith LA. Ricin perspective in bioterrorism. In: Morse SA, Editor. Bioterrorism. 1st ed. Croatia: InTech; 2012. 133-58.

2- Lee MD, Wang RY. Toxalbumins. In: Brent J, Wallace KL, Burkhart KH, Phillips SD, Donovan JW, Editors. Critical Care Toxicology, 1st ed. Philadelphia: Elsevier Mosby; 2005. 1345-349.

3- Audi J, Belson M, Patel M, Schier J, Osterloh J. Ricin poisoning: a comprehensive review. JAMA. 2005; 294(18):2342-51.

4- Anderson PD. Bioterrorism: toxins as weapons. J Pharm Pract. 2012; 25(2):121-9.

5- Griffiths GD. Understanding ricin from a defensive viewpoint. Toxins (Basel). 2011; 3(11): 1373-92.

6- McKeon TA, Chen GQ, Lin, JT. Biochemical aspects of castor oil biosynthesis. Biochem Soc Trans.2000; 28: 972–74.

7- Castor Oil Plant. Available from: http://iran-plants.com/fa/856/%DA%A9%D813%DA86%DA%A9.html. 4.3.2014.

8- Castor Oil Plant. Wikipedia, the Free Encyclopedia. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/castor_oil_plant. 2014.1.5

9- Tuson RV. Note on an alkaloid contained in the seeds of the Ricinus communis, or castor-oil plant. J Chem Soc. 1864; 17: 195–97.

10- Johnson RC, Lemire SW, Woolfitt AR, Ospina M, Preston KP, Olson CT, et al. Quantification of ricinine in rat and human urine: a biomarker for ricin exposure. J Anal Toxicol. 2005; 29(3): 149-55.

11- Olsnes S, Saltvedt E, Pihl A. Isolation and comparison of galactose-binding lectins from Abrus precatorius and Ricinus communis. J Biol Chem. 1974; 249: 803–10.

12- Roberts LM, Lamb FI, Pappin DJ, Lord JM. The primary sequence of Ricinus communis agglutinin. comparison with ricin. J Biol Chem. 1985; 260: 15682–86.

13- Worbs S, Köhler K, Pauly D, Avondet MA, Schaer M, Dorner M, et al. Ricinus communis intoxications in human and veterinary medicine—A Summary of real cases. Toxins. 2011; 3: 1332-72.

14- Despeyroux D, Walker N, Pearce M, Fisher M, McDonnell M, Bailey SC, et al. Characterization

of ricin heterogeneity by electrospray mass spectrometry, capillary electrophoresis, and resonant mirror. Anal. Biochem. 2000; 279: 23–36.

15- Sehgal P, Kumar O, Kameswararao M, Ravindran J, Khan M, Sharma S, et al. Differential toxicity profile of ricin isoforms correlates with their glycosylation levels. Toxicology. 2011; 282: 56–67.

16- Sehgal P, Khan M, Kumar O, Vijayaraghavan R. Purification, characterization and toxicity profile of ricin isoforms from castor beans. Food Chem. Toxicol. 2010; 48: 3171–76.

17- Bashir MEH, Hubatsch I, Leinenbach HP, Zeppezauer M, Panzani RC, Hussein I. Ric c1 and Ric c3, the allergenic 2S albumin storage proteins of Ricinus communis: Complete primary structures and phylogenetic relationships. Int Arch Allergy Immunol. 199; 115: 73–82.

18- Thorpe SC, Kemeny DM, Panzani RC, McGurl B, Lord M. Allergy to castor bean. II. Identification of the major allergens in castor bean seeds. J Allergy Clin Immunol. 1988; 82: 67–72.

19- Olsnes S. The history of ricin, abrin and related toxins. Toxicon.2004; 44: 361–370

20- Scarpa A و Guerci A. Various uses of the castor oil plant (Ricinus communis L.). A review. J Ethnopharmacol. 1982; 5: 117–37.

21- Ogunniyi DS. Castor oil: A vital industrial raw material. Bioresour Technol. 2006; 97: 1086–91.

22- Mutlu H, Meier MAR. Castor oil as a renewable resource for the chemical industry. Eur J Lipid Sci. Technol. 2010; 112: 10–30.

23- De Lima da Silva N و Maciel M, Batistella C, Filho R. Optimization of biodiesel production from castor oil. Appl. Biochem Biotechnol. 2006; 130: 405–414.

24- Berman P, Nizri S, Wiesman Z. Castor oil biodiesel and its blends as alternative fuel. Biomass Bioenerg. 2011; 35: 2861–66.

25- Behl CR, Pande MB, Pande DP, Radadia MS. Nutritive value of matured wilted castor (Ricinus communis Linn.) leaves for crossbred sheep. Indian J Anim Sci. 1986; 56: 473–74.

26- Olsnes S, Pihl A. Ricin – a potent inhibitor of protein synthesis. FEBS Lett. 1972; 20: 327–29.

27- Lappi DA, Kapmeyer W, Beglau JM, Kaplan NO. The disulfide bond connecting the chains of ricin. Proc Natl Acad Sci. 1978; 75: 1096–100.

28- Endo Y, Tsurugi K. RNA N-glycosidase activity of ricin A-chain. Mechanism of action of the toxic lectin ricin on eukaryotic ribosomes. J Biol Chem. 1987; 262: 8128–130.

29- Endo Y, Mitsui K, Motizuki M, Tsurugi K. The mechanism of action of ricin and related toxic lectins on eukaryotic ribosomes. The site and the characteristics of the modification in 28S ribosomal RNA caused by the toxins. J Biol Chem. 1987; 262: 5908–12.

30- Endo Y, Mitsui K, Motizuki M, Tsurugi K. The Mechanism of action of ricin and related toxic lectins on eukaryotic ribosomes. The site and the characteristics of the modification in 28 S ribosomal RNA caused by the toxins. J Biol Chem. 1987; 262: 5908–12.

31- Stirpe F, Batelli MG. Ribosome-inactivating proteins: Progress and problems. Cell Mol Life Sci. 2006; 63(16): 1850-66.

32- Lord JM, Roberts LM, Robertus JD. Ricin: structure, mode of action, and some current applications. FASEB J, 1994; 8: 201-8.

33- Roberts LM, Lamb FI, Pappin D, Lord JM. The primary sequence of Ricinus communis agglutinin. J Biol Chem. 1985; 260: 15682-86.

34- Robertus JD. The structure and action of ricin, a cytotoxic N-glycosidase. Semin Cell Biol. 1991; 2: 23-30.

35- Hegde R, Podder SK. Studies on the variants of the protein toxins ricin and abrin. Eur J Biochem.1992; 204(1): 155-64.

36- Moya M, Dautry-Varsat A, Goud B, Louvard D, Boquet P. Inhibition of coated pit formation in HEp2 cells blocks the cytotoxicity of diphtheria toxin but not that of ricin toxin. J Cell Biol. 1985; 101: 548–59.

37- Shurety W, Bright NA, Luzio JP. The effects of cytochalasin D and phorbol myristate acetate on the apical endocytosis of ricin in polarised Caco-2 cells. J Cell Sci. 1996; 109: 2927–35.

38- Iversen TG, Skretting G, Llorente A, Nicoziani P, van Deurs B, Sandvig K. Endosome to Golgi transport of ricin is independent of clathrin and of the Rab9- and Rab11-GTPases. Mol Biol Cell. 2001; 12: 2099–107.

39- Jackman MR, Shurety W, Ellis JA, Luzio JP. Inhibition of apical but not basolateral endocytosis of ricin and folate in Caco-2 cells by cytochalasin D. J Cell Sci. 1994; 107: 2547–56.

40- Jackman MR, Ellis JA, Gray SR, Shurety W, Luzio JP. Cell polarization is required for ricin

sensitivity in a Caco-2 cell line selected for ricin resistance. Biochem J. 1999; 341: 323–327.

41- Van Deurs B, Sandvig K, Petersen O, Olsnes S, Simons K, Griffiths G. Estimation of the amount of internalized ricin that reaches the trans-Golgi network. J Cell Biol. 1988; 106: 253–67.

42- van Deurs B, Tønnessen TI, Petersen OW, Sandvig K, Olsnes S. Routing of internalized ricin and ricin conjugates to the Golgi complex. J Cell Biol. 1986; 102: 37–47.

43- Grimmer S, Iversen TG, van Deurs B, Sandvig K. Endosome to Golgi transport of ricin is regulated by cholesterol. Mol Biol Cell. 2000; 11: 4205–16.

44- Lauvrak SU, Llorente A, Iversen TG, Sandvig K. Selective regulation of the Rab9-independent transport of ricin to the Golgi apparatus by calcium. J Cell Sci. 2002; 115: 3449–56.

45- Tjelle TE, Brech A, Juvet LK, Griffiths G, Berg T. Isolation and characterization of early endosomes, late endosomes and terminal lysosomes: Their role in protein degradation. J Cell Sci. 1996; 109: 2905–14.

46- Dang H, Klokk TI, Schaheen B, McLaughlin BM, Thomas AJ, Durns TA, et al. Derlin-dependent retrograde transport from endosomes to the Golgi apparatus. Traffic. 2011; 12: 1417–31.

47- Llorente A, Lauvrak SU, van Deurs B, Sandvig K. Induction of direct endosome to endoplasmic reticulum transport in chinese hamster ovary (CHO) cells (LDLF) with a temperature-sensitive defect in ε-coatomer protein (ε-Cop). J Biol Chem. 2003; 278: 35850–55.

48- Amessou M, Fradagrada A, Falguières T, Lord JM, Smith DC, Roberts LM, et al. Syntaxin 16 and syntaxin 5 are required for efficient retrograde transport of several exogenous and endogenous cargo proteins. J Cell Sci. 2007; 120: 1457–68.

49- Rapak A, Falnes PO, Olsnes S. Retrograde transport of mutant ricin to the endoplasmic reticulum with subsequent translocation to cytosol. Proc Natl Acad Sci. USA 1997; 94: 3783–88.

50- Majoul I, Sohn, K, Wieland FT, Pepperkok R, Pizza M, Hillemann, J et al. KDEL receptor (Erd2p)-mediated retrograde transport of the cholera toxin A subunit from the Golgi involves Copi, p23, and the COOH terminus of Erd2p. J Cell Biol. 1998; 143: 601–612.

51- Jetzt AE, Cheng JS, Tumer NE, Cohick WS. Ricin A-chain requires c-Jun N-terminal kinase to induce apoptosis in nontransformed epithelial cells. Int J Biochem Cell Biol. 2009; 41: 2503–10.

52- Horrix C, Raviv Z, Flescher E, Voss C, Berger M. Plant ribosome-inactivating proteins type II induce the unfolded protein response in human cancer cells. Cell Mol Life Sci. 2011; 68: 1269–81.

53- Kumar O, Sugendran K, Vijayaraghavan R. Oxidative stress associated hepatic and renal toxicity induced by ricin in mice. Toxicon. 2003;41(3): 333-38.

54- Ishiguro M, Tanabe S, Matori Y, Sakakibara R. Biochemical studies on oral toxicity of ricin. IV. A fate of orally administered ricin in rats. J. Pharmacobiodyn. 1992; 15: 147–156.

55- Zenilman ME, Fiani M, Stahl PD, Brunt EM, Flye MW. Use of ricin A-chain to selectively deplete Kupffer cells. J Surg Res. 1988; 45: 82–89.

56- Magnusson S, Berg T. Endocytosis of ricin by rat liver cells in vivo and in vitro is mainly mediated by mannose receptors on sinusoidal endothelial cells. Biochem J. 1993; 291: 749–755.

57- Skilleter DN, Paine AJ, Stirpe F. A comparison of the accumulation of ricin by hepatic parenchymal and non-parenchymal cells and its inhibition of protein synthesis. Biochim Biophys. Acta. 1981; 677: 495–500.

58- De Wolf FA. Natural toxins In: Moffat AC, Osselton MD, Widdop B. Editors. Clarke's Analysis of Drug and Poisons, 3rd ed. London: The Pharmaceutical Press; 2004. 189-201.

59- Franz DR, Jaax NK. Ricin toxin, In: Sidell FR, Takafuji ET, Franz DR. Editors. Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare. Washington DC: Walter Reed Army Medical Center, Borden Institute; 1997. 631-642.

60- Cook DL و David J, Griffiths GD. Retrospective identification of ricin in animal tissues following administration by pulmonary and oral routes. Toxicology. 2006; 223: 61–70.

61- Wannemacher R, Anderson J. Inhalation Ricin: Aerosol procedures, animal toxicology, and therapy, In: Salem H. Editor. Inhalation Toxicology, 2nd ed, Boca Raton, Florida: CRC Press; 2005. 973–979.

62- Center for Disease Control and Prevention. Ricin: Epidemiological Overview for Clinicians. Available from http://www.bt.cdc.gov/agent/ricin/clinicians/epidemiology.asp. 5.02. 2014.

63- Millard CB, LeClaire RD. Ricin and related

toxins: Review and perspective. In: Romano Jr. JA, Lukey BJ. Editors. Chemical Warfare Agents: Chemistry, Pharmacology, Toxicology, and Therapeutics, 2nd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press; 2007. 423-467.

64- Challoner KR, McCarron MM. Castor bean intoxication. Ann Emerg Med. 1990;19(10): 1177-83.

65- Palatnick W, Tenenbein M. Hepatotoxicity from castor bean ingestion in a child. J Toxicol Clin Toxicol. 2000; 38(1): 67-9.

66- Aplin PJ, Eliseo T. Ingestion of castor oil plant seeds. Med J Aust. 1997; 167(5):260-1.

67- Lim H, Kim HJ, Cho YS. A case of ricin poisoning following ingestion of Korean castor bean. Emerg Med J. 2009;26(4):301-2.

68- Plenert B, Prasa D, Hentschel H, Deters M. Plant exposures reported to the Poisons Information Centre Erfurt from 2001-2010. Planta Med. 2012;78(5):401-8.

69- Lucas GN. Plant poisoning in Sri Lankan children: A hospital based prospective study. Sri Lanka J Child Health. 2006; 35: 111–124.

70- Krenzelok EP, Mrvos R. Friends and foes in the plant world: A profile of plant ingestions and fatalities. Clin Toxicol. (Phila.). 2011; 49: 142–119.

71- Eid GN, Osman HS, Mohamed HY, Qotb IAE. Castor oil intoxicated patients admitted to Ain Shams university poison control center (Egypt) during 2003-2007. Egyptian J Natural Toxins, 2010; 7(1, 2): 67-85.

72- Al-Tamimi FA, Hegazi AE. A case of castor bean poisoning. Sultan Qaboos Univ Med J. 200; 8: 83–87.

73- Assiri AS. Ricin poisoning causing death after ingestion of herbal medicine. Ann Saudi Med. 2012; 32(3): 315-7.

74- Despott E, Cachia MJ. A case of accidental ricin poisoning. Malta Med J. 2004; 16(4): 39-41.

75- Targosz D, Winnik L, Szkolnicka B. Suicidal poisoning with castor bean (Ricinus communis) extract injected subcutaneously—Case report. Clin Toxicol. 2002; 40: 398–398.

76- Watson WA, Litovitz TL, Klein-Schwartz W, Rodgers GC, Jr., Youniss J, Reid N.et al. 2003 annual report of the American Association of Poison Control Centers toxic exposure surveillance system. Am J Emerg Med. 2004; 22: 335–404.

77- Coopman V, De Leeuw M, Cordonnier J, Jacobs W. Suicidal death after injection of a castor bean extract (Ricinus communis L.). Forensic Sci Int. 2009; 189(1-3):e13-20.

78- Røen BT, Opstad AM, Haavind A, Tønsager J. Serial ricinine levels in serum and urine after ricin intoxication. J Anal Toxicol.2013; 37(5):313-7.

79- Kopferschmitt J, Flesch F, Lugnier A, Sauder Ph, Jaeger A, Mantz JM. Acute voluntary intoxication by ricin. Hum Exp Toxicol.1983; 2(2): 239-242.

80- Spitler LE, del Rio M, Khentigan A, Wedel NI, Brophy NA, Miller LL. et al. Therapy of patients with malignant melanoma using a monoclonal antimelanoma antibody-ricin A chain immunotoxin. Cancer Res. 1987: 47: 1717–23.

81- Zhou XX و Ji F, Zhao JL, Cheng LF, Xu CF. Anti-cancer activity of anti-p185Her-2 ricin A chain immunotoxin on gastric cancer cells. J Gastroenterol Hepatol. 2010; 25: 1266–75.

82- Baluna R, Vitetta ES. Vascular leak syndrome: A side effect of immunotherapy. Immunopharmacology. 1997; 37; 117–32.

83- Wu AM, Senter PD. Arming antibodies: Prospects and challenges for immunoconjugates. Nat. Biotechnol. 2005; 23: 1137–46.

84- Doan LG. Ricin: mechanism of toxicity, clinical manifestations, and vaccine development. A review. J Toxicol Clin Toxicol. 2004; 42(2):201-8.

85- Della-Porta AJ. Bioterrorism: an historical perspective. Microbiol Australia. 2003May; 6-10.

86- Zilinskas, RA. Iraq›s biological weapons: The past or future. JAMA. 1997; 278: 418-24.

87- Musshoff F, Madea B. Ricin poisoning and forensic toxicology. Drug Test Anal. 2009;1(4): 184-91.

88- Papaloucas M, Papaloucas C, Stergioulas A. Ricin and the assassination of Georgi Markov. Pak J Biol Sci. 2008; 11(19): 2370-1.

89- Knight B. Ricin-a potent homicidal poison. BMJ. 1979: 350-1.

90- Schepa LJ, Templea WA, Buttb GA, Beasleya MD. Ricin as a weapon of mass terror - Separating fact from fiction. Environ International. 2009; 35(8): 1267–71.

91- Warrick J.An Al Qaeda ‹chemist› and the quest for ricin. Available from: http://www.washingtonpost.com/ac2/wp-dyn/A2159-2004May4?language=printer(1of 6)5/5/2004

92- Yahoo News. Authorities arrest Mississippi man in ricin letters to Obama, senator. Available

from:http://news.yahoo.com/blogs/ticket/letter-addressed-obama-contained-suspicious-substance-153931701--politics.html.

93- Saeidnia S, Abdollahi M. How dangerous could be the receiving of a ricin-contaminated letter? Iran J Biotech. 2013; 11(3): 141-43.

94- Center for Disease Control and Prevention. Facts about Ricin. Available from http://www.bt.cdc.gov/agent/ricin/facts.asp 5.4.2014.

95- Leek MD, Griffiths GD, Green MA. Pathological aspects of ricin toxicity in mammalian lymph node and spleen. Med Sci Law. 1990; 30(2):141-8.

96- Godal A, Olsnes S, Pihl A. Radioimmunoassays of abrin and ricin in blood. J Toxicol Environ Health. 1981;8(3):409-17.

97- Leith AG, Griffiths GD, Green MA. Quantification of ricin toxin using a highly sensitive avidin/biotin enzyme-linked immunosorbent assay. J Forensic Sci. 1988; 28(4): 227-36.

98- Chen HY, Tran H, Foo LY, Sew TW, Loke WK. Development and validation of an ELISA kit for the detection of ricin toxins from biological specimens and environmental samples. Anal Bioanal Chem. 2014 Jun 14. [Epub ahead of print]

99- Poli MA, Rivera VR, Hewetson JF,Merrill GA. Detection of ricin by colorimetric and chemiluminescence ELISA. Toxicon. 1994; 32(11): 1371–77.

100- Naranga U, Andersona GP, Liglera FS, Buransb J. Fiber optic-based biosensor for ricin. Biosen Bioelect. 1997; 12(9-10):937–45.

101- Shyu R, Shyu HF, Liu HW, Tang SS. Colloidal gold-based immunochromatographic assay for detection of ricin. Toxicon. 2002; 40(3): 255-58.

102- Despeyroux D, Walker N, Pearce M, Fisher M, McDonnell M, Bailey SC. Et al. Characterization of ricin heterogeneity by electrospray mass spectrometry, capillary electrophoresis, and resonant mirror. Anal Biochem. 2000; 279: 23–36.

103- Sehgal P, Kumar O, Kameswararao M, Ravindran J, Khan M, Sharma S. et al. Differential toxicity profile of ricin isoforms correlates with their glycosylation levels. Toxicology. 2011; 282: 56–67.

104- Schieltz DM, McGrath SC, McWilliams LG, Rees J, Bowen MD, Kools JJ. et al. Analysis of active ricin and castor bean proteins in a ricin preparation, castor bean extract, and surface swabs from a public health investigation. Forensic Sci Int. 2011; 209: 70–79.

105- Duriez E, Fenaille F, Tabet JC, Lamourette P, Hilaire D, Becher F. et al. Detection of ricin in complex samples by immunocapture and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. J Proteome Res. 2008:7: 4154–63.

106- McGrath SC, Schieltz DM, McWilliams LG, Pirkle JL, Barr JR. Detection and quantification of ricin in beverages using isotope dilution tandem mass spectrometry. Anal Chem. 2011; 83: 2897–5.

107- Ma X, Tang J, Li C, Liu Q, Chen J, Li H, Guo L, Xie J. Identification and quantification of ricin in biomedical samples by magnetic immunocapture enrichment and liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. Anal Bioanal Chem. 2014 Mar 15. [Epub ahead of print]

108- Kumar O, Pradhan S, Sehgal P, Singh Y, Vijayaraghavan R. Denatured ricin can be detected as native ricin by immunological methods, but nontoxic in vivo. J Forensic Sci. 2010; 55: 801–7.

109- Lubellia C, Chatgilialoglua A, Bolognesia A, , Strocchib P, Colombattic M, Stirpea F.Detection of ricin and other ribosome-inactivating proteins by an immuno-polymerase chain reaction assay. Anall Biochem. 2006;355(1): 102–9.

110- Becher F, Duriez E, Volland H, Tabet JC, Ezan E. Detection of functional ricin by immunoaffinity and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Anal Chem. 2007; 79: 659–65.

111- Hamelin EI, Johnson RC, Osterloh JD, Howard DJ, Thomas JD. Evaluation of ricinine, a ricin biomarker, from a non-lethal castor bean ingestion. J Anal Toxicol. 2012;36(9):660-2.

112- Darby SM, Miller ML, Allen RO. Forensic determination of ricin and the alkaloid marker ricinine from castor bean extracts. J Forensic Sci. 2001; 46(5):1033-42.

113- Smallshaw JE, Vitetta ES. Ricin vaccine development. Curr Top Microbiol Immunol. 2012; 357: 259-72.

114- Smallshaw JE, Richardson JA, Pincus S, Schindler J, Vitetta ES. Preclinical toxicity and efficacy testing of RiVax, a recombinant protein

vaccine against ricin. Vaccine. 2005; 23(39): 4775-84.

115- Marconescu PS, Smallshaw JE, Pop LM, Ruback SL, Ellen S. Vitetta ES. Intradermal administration of RiVax protects mice from mucosal and systemic ricin intoxication. Vaccine. 2010; 28(32): 5315–22.

116- Smallshaw JE, Vitetta ES. A lyophilized formulation of RiVax, a recombinant ricin subunit vaccine, retains immunogenicity. Vaccine. 2010; 28(12): 2428–35.

117- Beyer NH, Kogutowska E, Hansen JJ, Engelhart Illigen KE, Heegaard NH. A mouse model for ricin poisoning and for evaluating protective effects of antiricin antibodies. Clin Toxicol. (Phila.) 2009; 47: 219–25.

118- Foxwell BM, Detre SI, Donovan TA, Thorpe PE. The use of anti-ricin antibodies to protect mice intoxicated with ricin. Toxicology. 1985; 34: 79–88.

Ricin Poisoning from Forensic Toxicology Viewpoint

Kambiz Soltaninejad

PhD in Toxicology, Associate Professor of Toxicology, Legal Medicine Research Center, Legal Medicine Organization, Tehran, Iran

Abstract

Background: *Ricin is a glycoprotein and one of the most toxic produced plant toxins derived from the castor plant. Accidental and criminal poisoning and bioterrorism due to ricin have been considered as the most important type of intoxications in forensic toxicology. In this article, the origin, history, biochemistry, toxicity and analytical procedures for determination of ricin in clinical and forensic cases are reviewed.*

Findings: *Due to a high toxicity, the relative ease of production and availability of plant, economic methods for extraction of ricin from plant, non-specific clinical presentations and lack of specific antidote for treatment of the poisoning, ricin has been used in criminal poisoning and bioterrorism. In recent years, many Al Qaeda's illegal clandestine laboratories for production of ricin in Afghanistan and other countries have been detected. Also, sending of ricin-contaminated letters to some governmental important people such as USA president has been reported. This fact represents the importance of continuous threat due to ricin bioterrorism. Analysis of ricin in biological and non-biological samples is necessary for confirmation of poisoning especially in forensic cases. Immunoassay techniques have been used for screening of samples and combination of high tech chromatographic and mass spectrometric methods could be used for confirmatory analysis in clinical and forensic cases.*

Conclusion: *Due to continuous threat of our country by terroristic groups and possibility of use of ricin in modern terroristic acts, there is a necessity for continuous medical education of health care providers and forensic medicine specialists about ricin poisoning from medical and forensic aspects.*

Key words: *Ricin, Poisoning, Bioterrorism, Forensic Toxicology*

Received: 6 April 2014 *Accepted: 14 Jun 2014*

Correspondence: Legal Medicine Organization, Tehran -1114795113, Iran. Tel. +98 (21) 55613731

Email: kamsoltaninejad@yahoo.com